

THÈSE

présentée à

L'U.F.R DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DE L'UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ

pour obtenir le

**GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
DE FRANCHE-COMTÉ**
Spécialité Sciences pour l'Ingénieur

Biocapteur optique : Sonde fibrée à cavité Fabry-Pérot intrinsèque et à couplage évanescent

par

RYAD BENDOULA

soutenue le 17 novembre 2005 devant la commission d'examen :

Président

D. VAN LABEKE Professeur, Université de Franche-Comté

Rapporteurs

G. BRUN Professeur, Université Jean Monnet de Saint Etienne
P. FERDINAND Directeur de recherche, Centre d'Etudes de Saclay

Examineurs

T. GHARBI Professeur, Université de Franche-Comté
R. GIUST Maître de Conférences, Université de Franche-Comté
B. WACOGNE Chargé de recherche, CNRS/Université de Franche-Comté

De la peur,

Notre peur la plus profonde n'est pas que nous ne soyons pas à la hauteur.

Notre peur la plus profonde est que nous sommes puissants au-delà de toute limite.

C'est notre propre lumière, et non pas notre obscurité qui nous effraie le plus.

Nous nous posons la question " qui suis-je, moi, pour être brillant, radieux, talentueux, merveilleux ? "

En fait, qui êtes-vous pour ne pas l'être ?

Vous êtes un enfant de Dieu. Vous restreindre, vivre petit, ne rend pas service au monde.

L'illumination n'est pas de vous rétrécir pour éviter d'insécuriser les autres.

À mesure que nous laissons briller notre propre lumière, nous donnons inconsciemment aux autres la permission de faire de même.

En nous libérant de notre propre peur, notre présence libère automatiquement les autres.

Extrait du discours prononcé

*par **Nelson Mandela***

*lors de son investiture à la présidence
de la République d'Afrique du Sud en 1994.*

À Mam, Dada,

Nana, Sésé,

Sam, Xavier,

Soussou ...

à ma famille,

au Poiset, mon quartier.

Remerciements

Le travail qui est résumé dans le présent manuscrit a été effectué au sein du Département d'Optique P.M. Duffieux de l'Institut FEMTO-ST (U.M.R. 6174) à l'Université de Franche-Comté.

Tout d'abord, je remercie Monsieur D. VAN LABEKE, Professeur à l'Université de Franche-Comté et directeur du département d'Optique P.M. Duffieux, pour m'avoir permis d'effectuer cette étude doctorale.

J'exprime ma profonde gratitude à Monsieur G. BRUN, Professeur à l'Université de Saint-Étienne, et Monsieur P. FERDINAND, Directeur de Recherche au CEA, pour avoir accepté de lire et juger ce travail.

Je remercie également Monsieur le Professeur T. Gharbi et B. Wacogne, Chargé de Recherche, pour m'avoir accueilli et pour m'avoir confié ce travail de recherche.

Je ne saurais oublier Monsieur Remo Giust, Maître de Conférence à l'Université de Franche-Comté, et Monsieur Patrick Sandoz, Chargé de Recherche, qui m'ont aidé, guidé et soutenu tout au long de ce travail.

Merci pour tout ce que vous m'avez appris et donné durant ces quelques années. Même si le passage entre les rouleaux n'est pas toujours agréable au premier abord, au final c'est génial et on en redemande encore !

Je tiens également à remercier ceux qui ont participé de près ou de loin à ce travail. En commençant par Frédéric Chérioux, chargé de recherche et surtout champion du monde de chimie. Sans oublié les ptits loups du LaboÉ, à savoir : é1000, Titi, Céline, Zou, Claire, JM, Bert, david-la crevette, Luc... ainsi que la John World Compagny. Changez rien les gens, vous êtes géniaux !

J'ai également une pensée pour les ptits poneys Fab (plus connu sous le nom de "coupe-coupe") et Sam (dit "pied de biche"), Blondin, Lapatte, le Gros et Bocasse.

Enfin, et pour finir, je remercie Lise, mon petit maître Cappello, pour sa compréhension et son aide mais surtout pour tout le bonheur qui est partagé.

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| | 4 |
| Introduction générale | 9 |
| 1 État de l'art | 13 |
| 1.1 Définition : qu'est ce qu'un biocapteur ? | 13 |
| 1.2 Biocapteurs non optiques | 15 |
| 1.2.1 Biocapteur thermique | 16 |
| 1.2.2 Biocapteur à effet piézoélectrique | 16 |
| 1.2.3 Biocapteur électrochimique : biocapteur conductimétrique | 17 |
| 1.3 Biocapteurs optiques | 18 |
| 1.3.1 Microscopie de fluorescence | 19 |
| 1.3.2 Méthodes optiques évanescentes directes | 20 |
| 1.3.2.1 Rappel sur les champs évanescents | 20 |
| 1.3.2.2 Guide d'ondes | 21 |
| 1.3.2.3 Interféromètre Mach-Zehnder intégré | 23 |
| 1.3.2.4 Biocapteurs basés sur la SPR | 24 |
| 1.3.3 Biocapteurs à fibres optiques | 26 |
| 1.3.3.1 Les fibres optiques | 27 |
| 1.3.3.2 Définition et classement des biocapteurs à fibres. | 28 |
| 1.3.3.3 Biocapteurs à fibres intrinsèques | 30 |
| 1.4 Conclusion | 34 |
| 2 Description du biocapteur réalisé et des phénomènes physiques mis en jeu | 37 |
| 2.1 Introduction | 37 |
| 2.2 Description du biocapteur | 37 |
| 2.2.1 Cahier des charges du biocapteur réalisé | 37 |
| 2.2.2 Principe général | 39 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 2.3 | Interrogation du biocapteur | 42 |
| 2.3.1 | Principe de la modulation de cohérence | 42 |
| 2.3.2 | Application de la modulation de cohérence à notre étude | 45 |
| 2.4 | Description de l'interféromètre de Fabry-Pérot | 47 |
| 2.4.1 | Principe d'un interféromètre de Fabry-Pérot | 47 |
| 2.4.2 | Intégration de la fenêtre d'analyse dans la cavité Fabry-Pérot | 50 |
| 2.5 | Perturbation d'une onde guidée par le milieu | 52 |
| 2.5.1 | Introduction | 52 |
| 2.5.2 | Influence des différents paramètres de la sonde | 52 |
| 2.5.2.1 | Détermination théorique | 53 |
| 2.5.2.2 | Exploitation des résultats théoriques | 58 |
| 2.5.3 | Détermination théorique de la profondeur d'ouverture de la fenêtre d'analyse | 64 |
| 2.5.3.1 | Cas d'un guide plan : influence de l'épaisseur du guide | 64 |
| 2.5.3.2 | Cas du biocapteur : influence de la profondeur d'ouverture de la fenêtre d'analyse | 66 |
| 2.6 | Conclusion | 77 |
| 3 | Réalisation technologique | 79 |
| 3.1 | Introduction | 79 |
| 3.2 | Réalisation des miroirs en bout de fibre | 79 |
| 3.2.1 | Présentation | 79 |
| 3.2.2 | Fabrication et contrôle des miroirs | 80 |
| 3.2.2.1 | Dépôt des miroirs | 80 |
| 3.2.2.2 | Méthode de contrôle : mesure en continu | 82 |
| 3.2.2.3 | Aspect théorique : calcul du coefficient de réflexion | 84 |
| 3.2.2.4 | Réalisation de miroirs monocouches | 85 |
| 3.2.2.5 | Dépôt de dioxyde de titane (TiO_2) | 86 |
| 3.2.2.6 | Étude du TiO_2 et du dioxyde de silicium SiO_2 | 87 |
| 3.2.2.7 | Réalisation de miroirs multicouches | 89 |
| 3.2.2.8 | Micro-fabrication de miroirs en extrémité de fibre | 90 |
| 3.2.3 | Conclusion | 93 |
| 3.3 | Soudure des fibres | 93 |
| 3.3.1 | Introduction | 93 |
| 3.3.2 | Principe général de la soudure de deux fibres optiques | 94 |
| 3.3.2.1 | Présentation du principe | 94 |

| | | |
|---------|---|-----|
| 3.3.2.2 | Description du principe | 95 |
| 3.3.2.3 | Paramètres influant sur le processus de soudure | 97 |
| 3.3.3 | Application du procédé de soudure à nos travaux | 98 |
| 3.3.3.1 | Présentation | 98 |
| 3.3.3.2 | Méthode de contrôle : mesure en continu | 99 |
| 3.3.3.3 | Programme de soudure | 100 |
| 3.3.3.4 | Réalisation des soudures | 104 |
| 3.3.4 | Caractérisation mécanique des soudures | 105 |
| 3.3.4.1 | Présentation | 105 |
| 3.3.4.2 | Mesure de résistance | 106 |
| 3.3.5 | Conclusion | 107 |
| 3.4 | Réalisation et caractérisation de la cavité Fabry-Pérot | 108 |
| 3.4.1 | Réalisation de la cavité Fabry-Pérot | 108 |
| 3.4.2 | Caractérisation de la cavité Fabry-Pérot | 109 |
| 3.5 | Ouverture de la fenêtre d'analyse | 112 |
| 3.5.1 | Présentation | 112 |
| 3.5.2 | Procédé retenu | 114 |
| 3.5.2.1 | Description du procédé | 114 |
| 3.5.2.2 | Réalisation de la fenêtre d'analyse | 115 |
| 3.5.3 | Conclusion | 119 |
| 3.6 | Fonctionnalisation du biocapteur et détection de substances chimiques | 119 |
| 3.6.1 | Choix des espèces chimiques et biologiques | 120 |
| 3.6.1.1 | Présentation | 120 |
| 3.6.1.2 | La biotine | 120 |
| 3.6.1.3 | L'avidine | 121 |
| 3.6.2 | Techniques de dépôt | 122 |
| 3.6.3 | Caractérisation des propriétés optiques | 125 |
| 3.6.3.1 | Étude expérimentale : test massif par ellipsométrie | 125 |
| 3.6.3.2 | Rappel sur l'ellipsométrie | 125 |
| 3.6.3.3 | Mesures ellipsométriques | 127 |
| 3.6.4 | Lien entre la variation d'épaisseur et la concentration | 137 |
| 3.6.5 | Conclusion | 141 |
| 3.7 | Validation expérimentale | 142 |
| 3.7.1 | Architecture test | 142 |
| 3.7.2 | Dépôt de miroirs et interrogation par modulation de cohérence | 143 |
| 3.7.3 | Ouverture de la fenêtre d'analyse | 145 |

| | | |
|---|---|------------|
| 3.7.4 | Detection de milieu extérieur | 147 |
| 3.8 | Conclusion du chapitre | 151 |
| Conclusion générale | | 153 |
| Glossaire | | 157 |
| A. Procédé de micro-fabrication de miroir | | 161 |
| B. Préparation et réalisation de SAMs biofonctionnelle | | 163 |
| C. Schéma de l'extensiomètre | | 165 |
| Bibliographie | | 166 |

Table des figures

| | | |
|-----|--|----|
| 1.1 | Représentation schématique de la structure fonctionnelle d'un biocapteur | 14 |
| 1.2 | Onde évanescente : le faisceau lumineux (surface d'onde E_i), totalement réfléchi (surface d'onde E_r) à l'interface entre deux milieux crée une onde évanescente confinée sur une profondeur ΔZ_c dans le milieu 2. | 20 |
| 1.3 | Propagation d'une onde lumineuse dans un guide d'épaisseur e et d'indice de réfraction n_c , avec une biofonctionnalisation du milieu couvrant. | 21 |
| 1.4 | Interféromètre Mach-Zehnder intégré. | 23 |
| 1.5 | Couplage par un prisme d'une onde optique avec une résonance de plasmons de surface. | 25 |
| 1.6 | Fibre optique. | 27 |
| 1.7 | Fibres optiques classiques a) multimode à saut d'indice, b) multimode à gradient d'indice, c) monomode. | 28 |
| 1.8 | Configuration du biocapteur a) Faisceau de fibres bifurquées. b), d) La même fibre conduit la lumière de la source lumineuse à la sonde, et de cette dernière, au détecteur de lumière. c) La lumière émise par la sonde est conduite au détecteur par la fibre optique. | 30 |
| 1.9 | Exemple de structures de biocapteurs évanescents fibrés. (échelles non respectées) | 32 |
| 2.1 | Cavité Fabry-Pérot intrinsèque. | 39 |
| 2.2 | Ouverture de la fenêtre active. | 40 |
| 2.3 | Déposition de la sonde ou biorécepteur. | 41 |
| 2.4 | Schéma général de notre biocapteur. | 41 |
| 2.5 | Schéma général du biocapteur multiparamétrique. | 42 |
| 2.6 | Illustration du codage par modulation de cohérence dans le cas où un système de codage S_1 est utilisé. | 43 |
| 2.7 | Comparaison des spectres cannelés pour deux systèmes de décodages différents (I_0 puissance totale émise). | 44 |

| | | |
|------|--|----|
| 2.8 | Interrogation en réflexion du biocapteur par modulation de cohérence. | 45 |
| 2.9 | Schéma de principe d'une cavité Fabry-Pérot intrinsèque. | 48 |
| 2.10 | Répartition de l'intensité lumineuse réfléchie par un interféromètre de Fabry-Pérot pour différents coefficients de réflexion. | 49 |
| 2.11 | Architecture du biocapteur. | 50 |
| 2.12 | Deux états du biocapteur. | 52 |
| 2.13 | Propagation d'une onde lumineuse dans le biocapteur. | 53 |
| 2.14 | Propagation d'une onde lumineuse dans le guide plan. | 54 |
| 2.15 | Représentation des variations de ΔN en fonction des variations d'épaisseur Δd_1 et d'indice Δn_1 de la sonde pour le mode TE | 60 |
| 2.16 | Représentation des variations de ΔN en fonction des variations d'épaisseur Δd_1 et d'indice Δn_1 de la sonde pour le mode TM | 61 |
| 2.17 | Représentation des variations de ΔN en fonction des variations d'épaisseur Δd_1 pour différentes longueurs d'onde de travail, mode TE | 63 |
| 2.18 | Représentation des variations de ΔN en fonction des variations d'épaisseur Δd_1 pour différentes épaisseurs de guide. | 65 |
| 2.19 | Géométrie de la fibre optique usinée étudiée. z est l'axe de propagation et $\varepsilon = \varepsilon(x, y)$ | 67 |
| 2.20 | Coupe transverse du biocapteur. | 71 |
| 2.21 | Ouverture de la fenêtre active pour les deux valeurs limites de L | 73 |
| 2.22 | Evolution du champ guidé \vec{H} (mode TE) en fonction de la profondeur d'ouverture d'une fibre SMF 28. | 74 |
| 2.23 | Sensibilité du biocapteur pour différentes valeurs de L | 75 |
| 3.1 | Bâti de dépôt par canon à électron | 81 |
| 3.2 | Réflexivité pour une monocouche de TiO_2 , courbes expérimentales pour deux positions dans la cloche. | 82 |
| 3.3 | Dispositif expérimental du contrôle in situ. | 83 |
| 3.4 | Représentation des paramètres définissant un dépôt multicouche en bout de fibre. | 84 |
| 3.5 | Courbes expérimentales du dépôt de TiO_2 | 86 |
| 3.6 | Courbe fittée du dépôts de TiO_2 | 88 |
| 3.7 | Courbes théorique et expérimentale du dépôt d'un miroir multicouches. | 90 |
| 3.8 | Schéma des deux types de miroirs. | 91 |
| 3.9 | Principe de réalisation des micro-miroirs par <i>lift-off</i> | 92 |
| 3.10 | Photographie au microscope d'un micro-miroir réalisé en bout de fibre. | 93 |
| 3.11 | Seconde étape de réalisation de l'interféromètre de Fabry-Pérot. | 94 |
| 3.12 | Principe d'épissure optique par fusion. | 95 |

| | | |
|------|--|-----|
| 3.13 | Effet d'auto-centrage. | 97 |
| 3.14 | Exemple d'extrémité défectueuse. | 98 |
| 3.15 | Dispositif expérimental du contrôle in situ. | 100 |
| 3.16 | Programme pré-établi pour la soudure de deux fibres SM-SM. | 101 |
| 3.17 | Détérioration des fibres lors d'une soudure classique. | 102 |
| 3.18 | Courbe expérimentale de l'évolution de la réflectivité du miroir au cours de la soudure à partir du programme 01. | 103 |
| 3.19 | Programme développé pour la soudure de deux fibres. | 104 |
| 3.20 | Courbes expérimentales de l'évolution en temps réel de la réflectivité du miroir au cours de la soudure à partir du programme 007. | 105 |
| 3.21 | Extensiomètre pour fibre optique. | 106 |
| 3.22 | Courbe expérimentale d'étalonnage de l'extensiomètre. | 107 |
| 3.23 | Réalisation de deux miroirs sur deux bouts de fibres clivées indépendantes. . . . | 108 |
| 3.24 | Réalisation de la première soudure entre la fibre A et une fibre nue clivée C. . . . | 108 |
| 3.25 | Clivage de la fibre C à une distance l_c du miroir. | 109 |
| 3.26 | Réalisation de la seconde soudure entre la fibre C et la fibre B. | 109 |
| 3.27 | Fonction de transfert en réflexion de la cavité en fonction de la variation de longueur d'onde. | 110 |
| 3.28 | Fonction de transfert de la cavité après traitement du signal bruité. | 111 |
| 3.29 | Réalisation du masque (i.e gainage) de protection. | 113 |
| 3.30 | Schéma de la fibre après attaque chimique. | 113 |
| 3.31 | Schéma simplifié de la machine à polir. | 114 |
| 3.32 | Images obtenues au MEB de la fenêtre d'analyse. | 116 |
| 3.33 | Evolution de la puissance transmise par la fibre au cours du processus d'usinage. . | 117 |
| 3.34 | Image profilométrique de la surface polie. | 118 |
| 3.35 | Usinage série de plusieurs fibres | 119 |
| 3.36 | Représentation schématique et stéréoscopique de la molécule de biotine. | 121 |
| 3.37 | Structure tétramérique de l'avidine [?] | 121 |
| 3.38 | Préparation du substrat par hydroxylation d'une plaquette de silice. | 122 |
| 3.39 | Fixation du silane fonctionnalisé. | 122 |
| 3.40 | Représentation schématique et stéréoscopique de la molécule de biotine-NHS. . . | 123 |
| 3.41 | Dépôt de la sonde. | 124 |
| 3.42 | Capture des cibles. | 124 |
| 3.43 | Réflexion sur un échantillon d'une onde lumineuse polarisée rectilignement. . . . | 126 |
| 3.44 | Principe de l'ellipsométrie à modulation. | 127 |
| 3.45 | Variation de l'indice optique de la biotine en fonction de la longueur d'onde. . . . | 128 |

| | | |
|------|--|-----|
| 3.46 | Variation de l'indice optique de la biotine en fonction de la longueur d'onde. . . . | 129 |
| 3.47 | Spectre d'absorption de la biotine en solution. | 131 |
| 3.48 | Sensibilité du biocapteur pour le couple biotine/avidine pour le mode TE. . . . | 135 |
| 3.49 | Sensibilité du biocapteur pour le couple biotine/avidine pour le mode TM. . . . | 136 |
| 3.50 | Variation de l'indice effectif en fonction du nombre de molécules d'avidine fixées par la sonde. | 139 |
| 3.51 | Architecture test. | 142 |
| 3.52 | Intercorrélation de l'architecture test. | 144 |
| 3.53 | Ouverture de la fenêtre d'analyse. | 145 |
| 3.54 | Intercorrélation de l'architecture test usinée. | 146 |
| 3.55 | Deux états de l'architecture test. | 147 |
| 3.56 | Evolution du champ guidé \vec{E} (mode TE) pour deux milieux extérieurs différents. | 148 |
| 3.57 | Zone linéaire de l'interférogramme d'intercorrélation de l'architecture test. . . . | 149 |
| 3.58 | Evolution de l'intensité transmise par le capteur au cours du temps | 149 |
| 3.59 | Evolution expérimentale de l'intensité transmise par le biocapteur pour une va- riation de milieu extérieur (passage air \longrightarrow alcool \longrightarrow air). | 150 |
| 3.60 | Vue et coupe de l'extensiomètre. | 165 |

Introduction générale

Analyse biomédicale, contrôle des produits alimentaires, surveillance de l'environnement, domaine de la défense, industrie pharmaceutique... Toutes ces disciplines ont recourt à l'analyse biomoléculaire, afin de mieux maîtriser et caractériser chaque phase importante de réalisation, d'exploitation et de maintenance de leurs diverses activités. De fait, les **biocapteurs** sont devenus les outils communs et indispensables pour mener à bien ces diverses missions.

L'intérêt grandissant porté durant ces dernières années aux biocapteurs traduit tout l'espoir et l'enjeu économique lié au développement d'un dispositif révolutionnaire. Par révolutionnaire, il faut entendre : un dispositif à la taille et au prix réduit, autorisant l'exploration *in situ* d'un grand nombre d'échantillons et l'identification ou le dosage en parallèle d'une large gamme de substances cibles.

Rien que pour le secteur biomédical, les biocapteurs génèrent des attentions et des investissements considérables. Les phénomènes et les connaissances mis en œuvre couvrent la plupart des disciplines scientifiques et techniques à des stades de développement très avancés. À l'heure actuelle, la finalisation de tels dispositifs est encore freinée par des verrous technologiques, même si ceux-ci sont en passe d'être levés.

Le travail de thèse, présenté dans ce manuscrit, s'inscrit dans ce vaste domaine des biocapteurs appliqués au secteur biomédical. Il a été mené dans le cadre d'une Action Concertée Initiative (ACI) "BIOPUCE ALLERGIE" rassemblant le département d'optique Pierre Michel Duffieux de l'Institut Femto-ST et l'Institut National de Recherche Agronomique (INRA).

L'objectif général du projet est de développer un biocapteur optique dédié au diagnostic de pathologies humaines par la détection de marqueurs biologiques. Nous nous intéresserons plus particulièrement au diagnostic d'allergies alimentaires.

La problématique biomédicale est la suivante : l'allergie alimentaire touche 3 à 5 % des français. Chez les enfants d'âge préscolaire de moins de 4 ans, ce pourcentage oscille entre 8 et

10% et ne cesse d'augmenter. Une multitude d'aliments est susceptible d'entraîner une réponse allergique chez un patient, mais il est généralement admis que seuls une dizaine d'entre eux sont responsables de la majorité des cas graves d'allergies alimentaires (céréales, poissons, crustacés, œufs et dérivés, lait et dérivés, noix et fruit secs, graine de sésame, moutarde, céleri...). Toutefois, une centaine d'autres produits alimentaires ont été identifiés comme responsables d'allergies. De plus, l'arrivée sur le marché de "nouveaux aliments" qui recouvrent à la fois les produits exotiques et ceux issus des biotechnologies modernes (en particulier du génie génétique) risque de faire croître le nombre d'aliments responsables des réactions allergiques.

À l'heure actuelle, le diagnostic de l'allergie **IgE** - dépendante s'établit, dans un premier temps, par un interrogatoire minutieux, quasi policier, du patient sur ses antécédents familiaux et personnels. Dans un second temps, la réalisation de tests cutanés (diagnostic *in vivo*) permet de confirmer l'impression clinique. Toutefois, même s'ils restent l'outil privilégié du diagnostic, ces tests cutanés sont très exigeants en temps si l'on réalise une exploration large, et en expertise pour leurs interprétations. De plus, il arrive que pour le diagnostic de l'allergie alimentaire, ces techniques donnent lieu à des réponses faussement positives provoquées par le pouvoir **histaminolibérateur** non spécifique de certains aliments (farine de blé crue) ou par la teneur en **histamine** de l'aliment. La réactivité de ces tests est également variable selon l'âge de l'individu ; chez les jeunes enfants notamment ils peuvent être de faux négatifs. Ils peuvent même parfois être impossibles à réaliser : en cas de **dermatite atopique** étendue chez le nourrisson, ou dans le mois qui suit un accident **anaphylactique**. Ils sont réalisés grâce à des extraits commerciaux, qui n'ont pas tous une bonne rentabilité diagnostic, et doivent souvent faire appel à l'utilisation de produits alimentaires "**natifs**", dans des conditions de sécurité microbiologique parfois incompatible avec les normes de certains pays. Ainsi, pour des raisons de sécurité, à la suite de la connaissance des risques de contamination par l'agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine (**ESB**), les extraits de produits alimentaires d'origine bovine, dont le lait, ont été retirés de la commercialisation en France pour leur utilisation en tests *in vivo*. Ces mesures rendent le diagnostic *in vivo* de l'allergie au lait de vache légalement impossible alors qu'il s'agit de la première sensibilisation du nourrisson et que, depuis quelques années, son intérêt dans la prise en charge de la dermatite atopique de l'enfant incite les médecins à la diagnostiquer précocement. Pour le diagnostic "*in vitro*", les techniques immunochimiques basées sur la détection d'**IgE** spécifiques se heurtent rapidement à des contraintes d'ordre économique notamment parce que les **anticorps** vis-à-vis de nombreux allergènes différents doivent être étudiés en parallèle.

Il existe donc un besoin évident d'outils permettant un diagnostic rapide sur de nombreux allergènes. En effet, outre la variété des allergènes potentiels, nombre de patients peuvent être polysensibilisés à plusieurs allergènes dont le diagnostic simultané est indispensable. Notons également qu'il existe de nombreuses "réactions croisées" entre allergènes respiratoires et ali-

mentaires, en relation avec des **épitopes** communs. Nous nous acheminons donc vers la détection de ces épitopes au sein d'un allergène donné pour pouvoir détecter la "sensibilisation croisée" (par exemple la pomme chez les allergiques au pollen de bouleau, les escargots ou les crevettes chez les allergiques aux acariens, ou l'avocat, la banane, la châtaigne chez les allergiques au latex...) et éviter la survenue possible d'accidents cliniques lors de l'ingestion de ces épitopes contenus dans les aliments. La détection de l'allergie est ainsi en train de passer rapidement de la mise en évidence de l'aliment suspecté à celle d'une ou plusieurs molécules allergisantes au sein de cet aliment, en relation avec d'autres substances, alimentaires ou non. Il découle de tout cela une multiplication potentielle des dosages, incompatibles avec les exigences actuelles de temps et de coût. Enfin, les réactions allergiques vis-à-vis des aliments sont parfois en relation avec des mécanismes qui mettent en jeu des anticorps d'autres **isotypes** que les IgE ; c'est le cas en particulier de l'allergie aux protéines du lait de vache chez le nourrisson ; aspect qui n'est pas pris en compte par les dosages de routine existants.

Les biocapteurs multiparamétriques semblent donc parfaitement répondre aux besoins exposés ci-dessus ; ils présentent l'avantage de permettre l'étude simultanée d'anticorps d'isotypes différents, dirigés contre plusieurs aliments et/ou de molécules allergiques présentes dans ces aliments. Ils seront régulièrement remis à jour, au fur et à mesure que de nouveaux allergènes seront mis en évidence. Il n'existe pas, à notre connaissance, de projet similaire au nôtre, portant sur le développement de biocapteurs optiques appliqués au diagnostic des allergies alimentaires.

L'objectif de ce travail de thèse est un travail d'amont, en ce sens il s'attache à :

- Concevoir une structure de biocapteur qui réponde au mieux aux différentes contraintes imposées :
 - ★ Coût de fabrication relativement faible.
 - ★ Performances identiques aux biocapteurs et **biopuces** présent sur le marché.
 - ★ Multicibles.
- Définir le fonctionnement futur du dispositif ;
- Réaliser et caractériser les différents éléments constitutifs de ce biocapteur.

La suite du mémoire est structurée suivant trois chapitres. Le premier chapitre précise les notions de base employées dans le reste du mémoire et rend compte des principales méthodes utilisées pour analyser les interactions biomoléculaires. Il présente l'outil biocapteur à travers les caractéristiques qui lui sont propres, à savoir une description sommaire du principe de fonc-

tionnement des différentes méthodes existantes, un ordre de grandeur des quantités de matière mesurées et les limites inhérentes à ces différents dispositifs.

En s'appuyant sur cette présentation générique, le cadre, les objectifs et la structure du biocapteur à développer sont définis dans le second chapitre. Ce même chapitre est complété par une étude théorique des différents éléments qui composent notre dispositif. En effet, pour connaître la réponse du biocapteur en fonction de la grandeur recherchée, il est indispensable de définir son comportement dans le milieu de mesure. Or la maîtrise de ce comportement n'est pas immédiate car elle nécessite une connaissance approfondie du comportement des matériaux en présence et des phénomènes physico-chimiques aux différentes interfaces entre le milieu d'étude et l'élément sensible de détection.

Il en découle des contraintes quant à la conception de notre système, conception qui fait l'objet du troisième chapitre.

Nous décrivons l'élaboration et la caractérisation des différents éléments constituant notre dispositif, à savoir :

- La réalisation de la partie passive du système (cavité Fabry-Pérot intrinsèque).
- Le processus développé pour ouvrir la zone active ou fenêtre d'analyse.
- La méthode retenue pour fonctionnaliser cette fenêtre d'analyse et sa caractérisation optique.

Chapitre 1

État de l'art

Depuis le premier **biocapteur** développé par Clark et Lyons au début des années 1960 [1], la recherche sur leur développement a fait l'objet de nombreux efforts. Ces efforts ont été particulièrement importants ces dernières années en raison de leurs nombreuses applications potentielles, que ce soit dans le domaine médical, agro-alimentaire, ou du contrôle environnemental. Dans ce dernier cas, les biocapteurs sont considérés comme une solution alternative aux techniques analytiques traditionnelles telles que la chromatographie ou la spectrométrie. De plus, leur taille réduite, leur facilité d'utilisation ou encore la possibilité qu'ils offrent de réaliser des mesures *in situ* (sur site) en font des outils particulièrement intéressants.

Il existe un très grand nombre de biocapteurs, une description exhaustive de ces capteurs n'a pas sa place dans ce mémoire. Dans la suite de ce chapitre, nous nous sommes attachés à décrire les biocapteurs les plus pertinents vis-à-vis de l'application que nous envisageons.

Dans un premier temps, nous présenterons les différents composants d'un biocapteur. Puis dans un second temps, nous décrirons les principales méthodes utilisées pour analyser les interactions biomoléculaires (méthodes optiques et non-optiques).

1.1 Définition : qu'est ce qu'un biocapteur ?

Les biocapteurs sont des dispositifs permettant d'analyser des interactions biomoléculaires et dans lesquels les réactifs d'intérêt sont couplés à un **transducteur**, transformant ainsi un signal biologique en un signal mesurable [2].

La figure 1.1 présente le principe de fonctionnement d'un biocapteur [3]. Un biocapteur est donc un dispositif analytique qui intègre un élément biologique sur une surface fonctionnali-

sée appelée biorécepteur ou **sonde**, rendant possible une interaction biospécifique (réversible ou non) avec une **cible** (ou **analyte**), mesurée *via* un transducteur de signal. Le biorécepteur (enzymes, organites cellulaires, tissus...) catalyse des réactions biochimiques, ou interagit avec des structures complémentaires (antigène, anticorps, ADN...) conduisant à des changements de propriétés physiques, chimiques ou optiques des substrats. Ces différents changements de propriétés et leurs amplitudes nous permettent de déterminer la quantité de matière ayant interagit par unité de surface, c'est-à-dire le **taux de recouvrement** de notre biocapteur.

Comparés aux instruments d'analyse conventionnels, les biocapteurs sont caractérisés par une structure intégrée de tous ces composants.

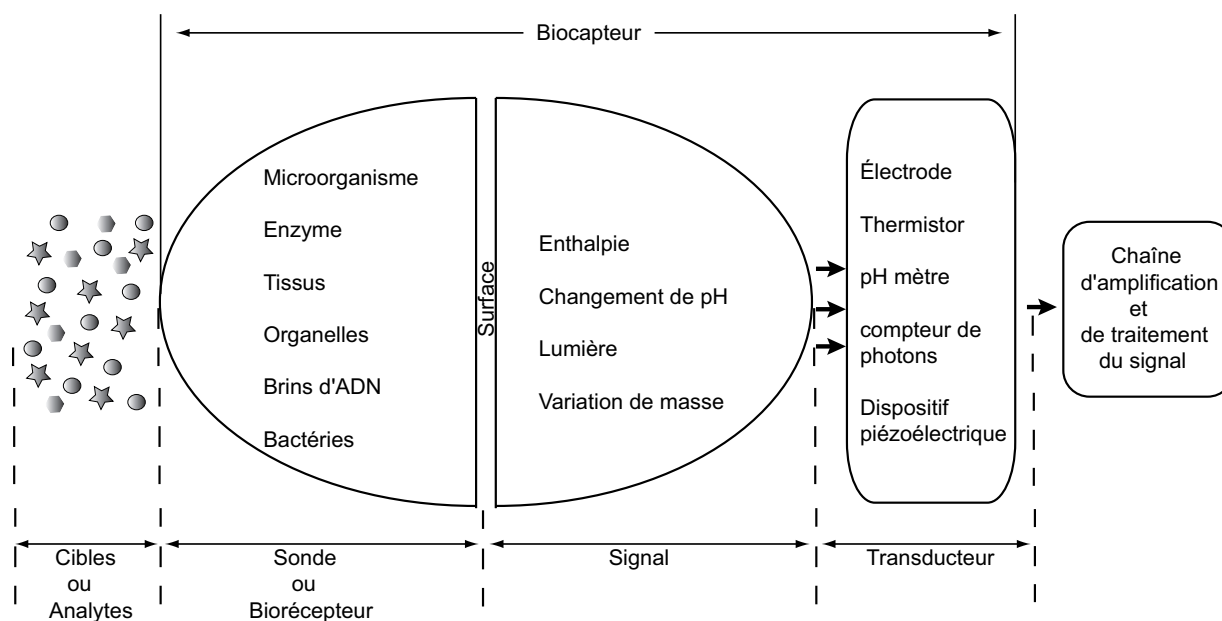


FIG. 1.1 – Représentation schématique de la structure fonctionnelle d'un biocapteur

Il existe deux types de fonctionnement pour les biocapteurs :

- les biocapteurs dits "*biocapteurs d'affinité*" sont fondés sur de simples interactions entre les analytes chimiques en solution et le biorécepteur. L'analyte détecté n'est pas détruit.
- les biocapteurs dits "*biocapteurs métaboliques*" reposent sur une réaction spécifique entre l'analyte en solution et le biorécepteur. La molécule recherchée est alors dégradée, la diminution de la concentration d'un réactif ou la formation de produit est alors détectée.

D'autre part, les biocapteurs peuvent être utilisés de manière *indirecte*, c'est-à-dire qu'une

ou les deux espèces impliquées dans l'interaction étudiée sont couplées à des molécules révélatrices de leur présence par leurs propriétés de transduction connues (fluorophores, marqueurs radioactifs,...), ou de manière *directe*, sans marqueur.

Il existe une très grande quantité de biocapteurs, il est cependant possible de les classer. Les principaux types de systèmes sont les suivants :

- les biocapteurs *thermométriques* : calorimétrie par titrage isotherme [4]
- les biocapteurs à *effet piézoélectrique* : microbalance à quartz [5], ondes de surface acoustiques sur des cristaux SAW ¹ [6]) ;
- les biocapteurs *optiques* : spectroscopie interne totale de réflexion (TIRS ²) [7], ellipsométrie [8], guide d'onde diélectrique [9], interféromètre de Mach-Zehnder intégré (MZI) [10], résonance des plasmons de surface (SPR ³) [11], miroir résonant [12] ;
- les biocapteurs *électrochimiques* : potentiométriques (potentiel d'électrode, transistor à effet de champ [13]), ampérométriques [14] ou conductimétriques/capacimétriques [15].

Nous allons donc nous attacher dans la suite de ce chapitre à décrire les grandes caractéristiques de ces biocapteurs.

1.2 Biocapteurs non optiques

Il existe un grand éventail de biocapteurs, et encore une fois, nous ne prétendons pas en faire une description exhaustive : nous décrirons simplement et de manière générale les trois grandes catégories qui composent la famille des biocapteurs non optiques.

Nous exposerons successivement les biocapteurs de type thermique, les biocapteurs à effet piézoélectrique, puis les biocapteurs électrochimiques. Nous nous attacherons à dépeindre sommairement le principe de fonctionnement de chacun d'entre eux et à donner un ordre de grandeur des différentes quantités de matière mesurées. Nous présenterons aussi les limites inhérentes à ces différents systèmes.

¹Surface Acoustic Waves

²Total Internal Reflection Spectroscopy

³Surface Plasmon Resonance

1.2.1 Biocapteur thermique

Les capteurs thermométriques appelés aussi capteurs enthalpimétriques sont destinés à déterminer la concentration d'un produit par la variation d'enthalpie associée à la réaction enzymatique [16]. Cette réaction fait essentiellement appel aux réactions exo ou endothermiques. Le changement de température (ΔT) est déterminé par un microcalorimètre. Ce changement de température est relié aux variations d'enthalpie (ΔH) et à la capacité de chaleur massique du réacteur C_p , par la relation suivante :

$$\Delta T = \frac{n\Delta H}{C_p} \quad (1.1)$$

Où n est le nombre de moles de substrat ayant réagi.

Pour ce type de biocapteur, il n'est pas nécessaire de mesurer le produit de la réaction, seule la chaleur dégagée au cours de la réaction est utilisée dans la mesure.

Dans les premières études sur les biocapteurs thermiques [17]-[18], l'enzyme (biorécepteur) était fixée directement sur un thermistor, puis ce capteur était plongé dans une solution à tester. Les difficultés rencontrées au cours des mesures sont liées aux bruits de fond provenant des variations thermiques du milieu. Pour résoudre ce problème, Danielsson et *al* [19] ont développé un système de mesure dans lequel se trouvent deux capteurs. Sur l'un des deux est immobilisée une enzyme. On suit le changement thermique créé par la réaction enzymatique par rapport au capteur de référence ne portant pas d'enzyme. Il s'agit dans ce cas de mesures différentielles.

Ces biocapteurs sont adaptés aux mesures en continu, et sont de plus insensibles à la lumière.

La plupart de ces biocapteurs trouvent leurs applications dans les domaines pharmaceutique et clinique pour la détection de la pénicilline [20]-[21] et du glucose [20]-[22]. L'application de ce type de capteur dans le domaine environnemental, pour la détermination de métaux lourds ou de pesticides, est encore assez rare.

1.2.2 Biocapteur à effet piézoélectrique

L'effet piézoélectrique direct correspond au phénomène qui a lieu lorsque certains solides cristallins sont soumis à une contrainte mécanique appliquée sur leurs faces : la déformation du cristal s'accompagne d'une polarisation électrique dont l'amplitude croît avec la contrainte appliquée.

La piézoélectricité traduit donc l'interdépendance des propriétés électriques et mécaniques de certains matériaux. A l'inverse, si une différence de potentiel est appliquée entre les faces d'un matériau piézoélectrique, cela fait apparaître des contraintes au sein du matériau qui induisent une déformation : c'est l'effet piézoélectrique inverse, à la base du fonctionnement des transducteurs piézoélectriques. Ainsi, l'application d'un champ électrique sur les faces d'un cristal de quartz provoque sa déformation. Si le champ électrique est alternatif, le cristal se met à vibrer et une onde acoustique est générée au sein du matériau. Quand le quartz est inséré dans un circuit électronique approprié, la vibration peut être entretenue et le circuit mis en résonance.

Les biocapteurs à effet piézoélectrique sont sensibles aux variations de masse. En général, le capteur est un cristal en quartz résonnant sur lequel est déposé de part et d'autre une couche métallique (argent, or ou aluminium) suivie d'une couche contenant le biorécepteur. Toute modification de la masse à la surface du détecteur entraîne une modification de la fréquence de résonance : on obtient alors un système appelé microbalance à quartz.

Ces variations Δf de fréquence sont alors enregistrées. Elles peuvent être modélisées [23]-[24] sous la forme suivante :

$$\Delta f = -2,3 \times 10^{-6} \times f_0^2 \frac{\Delta m}{A} \quad (1.2)$$

où Δf est l'écart de fréquence à la résonance (en Hz), f_0 est la fréquence fondamentale du cristal (en Hz), Δm correspond à la variation de masse (en g) et A à la surface de l'électrode (en cm^2).

Ce type de capteur est utilisé pour détecter des virus [25]-[26], pour la détermination des anti-gènes ou anticorps [27]-[28]. Dans les études de contrôle environnemental, les biocapteurs servent à détecter indirectement des pesticides ou des métaux lourds dans les eaux [29]. Par exemple le système utilisé dans le travail de Makower a permis de détecter 2 ppm de DiisopropylFluoroPhosphate (DFP) [30] dans une solution tampon de pH égal à 8,5.

La plupart des systèmes commerciaux annoncent une résolution meilleure que le Hertz [31], mais il faut noter que les performances des microbalances à quartz sont limitées par les vibrations parasites extérieures au dispositif ainsi que par la présence d'impuretés dans l'échantillon.

1.2.3 Biocapteur électrochimique : biocapteur conductimétrique

Les capteurs électrochimiques sont classés selon leur mode de transduction : pontentiométrique, conductométrique ou ampérométrique. Les capteurs potentiométriques et ampérométriques sont les plus répandus. Les capteurs conductimétriques ont fait l'objet de peu de travaux.

Toutefois, depuis les années 1980, ils commencent à être à leur tour de plus en plus utilisés compte tenu de leur relative facilité d'élaboration. Nous ne décrivons donc que ce dernier.

La conductimétrie est une technique électrochimique alternative à l'ampérométrie et à la potentiométrie [32]. Elle permet de mesurer les variations (consommation ou production) d'espèces chargées générées au cours des réactions enzymatiques.

La conductance d'un corps est donnée par l'équation 1.3 :

$$G = \gamma \times \frac{A}{L} \quad (1.3)$$

où γ est la conductivité du matériau en $S \cdot cm^{-1}$ et où le rapport A/L représente la constante géométrique de la cellule en cm .

La mesure de la conductance d'un électrolyte s'effectue en immergeant dans la solution une cellule de mesure comprenant deux électrodes dont la surface A et la longueur L sont données. L'étalonnage ou le contrôle de la cellule sont effectués en mesurant sa conductance G_e pour un électrolyte de conductivité γ_e connue : $k = G_e/\gamma_e$. Lorsque l'on connaît la constante de conductivité de la cellule k , on détermine la conductivité γ d'un électrolyte quelconque en mesurant la conductance G de la cellule immergée dans cette électrolyte : $\gamma = G/k$.

Nous trouvons des applications de ce type de biocapteur dans le domaine biomédical [33], mais aussi dans le domaine environnemental. On peut citer par exemple le système développé par G.A. Zhylyak et S. Dzyadevych qui permet de détecter des métaux lourds avec une gamme de détection très intéressante ($Hg^{2+} : 1\mu M$, $Cd^{2+} : 5\mu M$, $Co^{2+} : 10\mu M$) en utilisant l'enzyme uréase [34].

Ce type de capteur suscite un intérêt croissant du fait de sa relative simplicité de fabrication. Cependant la conductance est considérée comme peu sélective et de nombreux travaux sont entrepris actuellement afin de remédier à ce problème.

1.3 Biocapteurs optiques

Les techniques optiques utilisées dans le contexte des analyses biomoléculaires sont elles aussi très nombreuses. C'est la raison pour laquelle nous ne décrivons principalement que les méthodes basées sur l'utilisation d'ondes évanescentes.

Mais avant de commencer, nous exposons, de par l'importance de cette technique, une des principales méthodes mises en œuvre dans les biocapteurs optiques : la détection de fluorescence. Il sera ensuite intéressant de rappeler quelques notions essentielles sur les champs évanescents, puis de présenter les trois types de capteurs les plus couramment utilisés dans le domaine (guide d'onde, Mach Zehnder Intégré, Résonance de Plasmons de Surface).

1.3.1 Microscopie de fluorescence

Les biocapteurs basés sur la détection de fluorescence sont non seulement très répandus mais aussi très divers. Nous détaillerons de manière générale les dispositifs en champ lointain commerciaux, en ne prenant pas en compte ceux en champ proche (fluorescence excitée par plasmons de surface [35]).

La microscopie de fluorescence en champ lointain est basée sur l'utilisation d'une biopuce, c'est-à-dire un substrat fonctionnalisé avec de nombreuses sondes différentes. La procédure d'utilisation comprend deux étapes principales : l'interaction puis la lecture. L'interaction consiste en l'injection sur la biopuce de la solution test contenant les cibles marquées par un fluorophore, suivie de l'élimination des cibles non liées par une solution de rinçage. Le nombre de molécules ayant réagi est ensuite déduit de la mesure de l'intensité de fluorescence.

Ce principe de base connaît de nombreuses variantes. Par exemple, le marquage peut se faire sur une molécule secondaire qui reconnaît les cibles qui se sont fixées. Plusieurs fluorophores différents peuvent aussi être utilisés. Cette méthode permet une automatisation et une mise en parallèle des mesures : Affymétrie [36], leader dans le domaine des biopuces, propose des matrices de 500 000 plots inclus dans une surface de $1,28 \text{ cm}^2$, soit un plot tous les $16 \text{ }\mu\text{m}$.

Aujourd'hui, la fluorescence est une méthode de référence pour la mesure d'interactions biomoléculaires, de par sa sensibilité et sa capacité d'analyse simultanée d'un très grand nombre de données, et ce malgré la nécessité du marquage des cibles.

Après une description des systèmes basés sur des mesures de fluorescence, systèmes qui sont devenus des instruments privilégiés pour la mesure en temps réel de toute interaction biomoléculaire, nous présentons des biocapteurs basés sur les propriétés de confinement des modes évanescents.

1.3.2 Méthodes optiques évanescentes directes

1.3.2.1 Rappel sur les champs évanescents

Classiquement, une onde évanescente est obtenue sur un dioptré lorsque l'onde propagative incidente, issue du milieu le plus réfringent (prisme, réseau ou structure guidante), arrive sur l'interface sous un angle d'incidence supérieur à l'angle de réfraction limite.

L'amplitude de l'onde évanescente décroît exponentiellement en fonction de sa distance à l'interface. Elle a donc la propriété intéressante d'être confinée au voisinage de celle-ci (sur une profondeur ΔZ_c , définie comme la distance à laquelle l'intensité se réduit d'un facteur e , cf figure (1.2)), siège des interactions biomoléculaires. Elle est dès lors insensible aux perturbations situées hors de cette limite ($\geq \Delta Z_c$).

L'utilisation des champs évanescents offre donc la possibilité de sonder en temps réel les changements d'indice de réfraction, d'épaisseur de couche, d'adsorption et de fluorescence causés par des réactions se produisant à une distance d'au plus quelques centaines de nanomètres de la surface.

Ainsi l'adsorption de molécules sur l'interface perturbe la propagation de l'onde évanescente et entraîne des variations de phase et d'amplitude du faisceau réfléchi. Aucun marqueur n'est nécessaire pour effectuer ces mesures, ce qui classe ces capteurs dans la catégorie des biocapteurs directs. De plus, généralement ces mesures ne perturbent pas l'interaction et ne nécessitent pas d'étape supplémentaire : les interactions peuvent être suivies en temps réel.

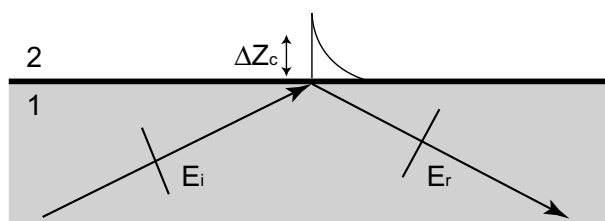


FIG. 1.2 – Onde évanescente : le faisceau lumineux (surface d'onde E_i), totalement réfléchi (surface d'onde E_r) à l'interface entre deux milieux crée une onde évanescente confinée sur une profondeur ΔZ_c dans le milieu 2.

Il existe un grand nombre de biocapteurs basés sur les propriétés de confinement des modes évanescents. Nous décrirons de manière générale les trois systèmes les plus répandus qui composent cette famille. Nous présenterons successivement les guides d'ondes, les interféromètres de Mach-Zehnder intégrés, puis les systèmes basés sur la Résonance des Plasmons de Surface.

Pour chacun de ces systèmes nous nous attacherons à décrire le principe de fonctionnement, leurs domaines d'analyse ainsi que les limites de détection et de résolution.

1.3.2.2 Guide d'ondes

Un guide d'ondes diélectrique est composé d'un film appelé structure guidante d'indice de réfraction élevé n_c encadré de deux milieux d'indices plus faibles. Lorsqu'un guide d'ondes est utilisé en tant que biocapteur, les deux milieux encadrant la structure guidante sont le substrat d'indice n_g , sur lequel est déposé le film mince, et le milieu couvrant le guide d'indice n_s , dans lequel se produiront les interactions biomoléculaires, comme le montre la figure 1.3.

Lorsqu'un faisceau lumineux est injecté dans ce guide, une onde évanescente se propage aux deux interfaces de la structure guidante. La longueur de pénétration de l'onde évanescente dans le milieu couvrant est alors définie, dans le cas d'un guide plan, par la relation suivante [37] :

$$\Delta Z_s = \left(\frac{\lambda}{2\pi}\right) \times [N^2 - n_s^2]^{-\frac{1}{2}} \quad (1.4)$$

avec λ , la longueur d'onde et N , l'indice effectif du mode guidé.

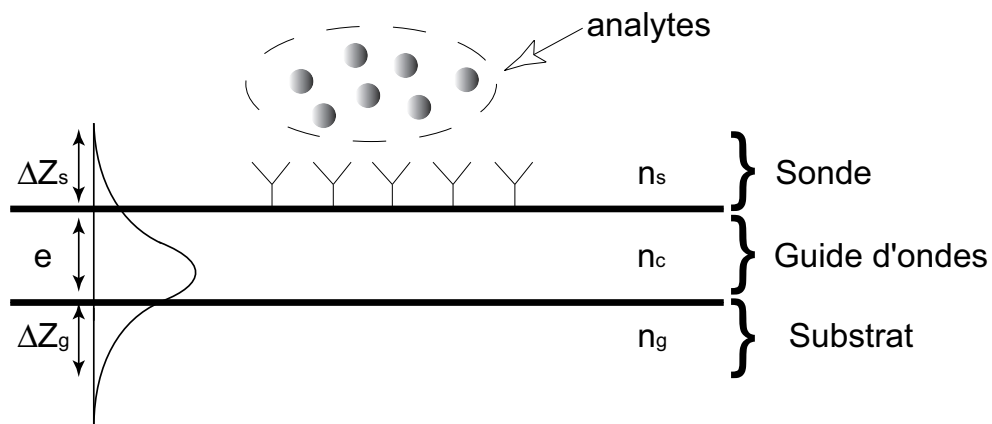


FIG. 1.3 – Propagation d'une onde lumineuse dans un guide d'épaisseur e et d'indice de réfraction n_c , avec une biofonctionnalisation du milieu couvrant.

Différents types de capteurs optiques intégrés basés sur les guides d'ondes peuvent être utilisés. Ces différences peuvent se situer au niveau du couplage de la lumière. Deux types de couplage existent : ceux où le faisceau lumineux est couplé dans le guide par un réseau (couplage par un réseau en entrée [9]), ceux où le faisceau est couplé hors du guide par un réseau (couplage par réseau en sortie).

De même, ces différences peuvent provenir du mode d'interrogation du système. Nous pouvons citer par exemple l'utilisation d'interféromètres de polarisation [37]. Pour ce dernier système, les variations liées au biorécepteur sont ressenties différemment par les modes TE_0 et TM_0 , ce qui induit une différence de variations des indices effectifs TE_0 et TM_0 . C'est cette différence de variation qui est détectée par ce système.

Le principe physique des capteurs optiques basés sur les guides d'ondes est le suivant : une perturbation au niveau de l'interface n_s/n_c se traduit par un changement ΔN de l'indice effectif du guide. Cette variation ΔN peut être induite par la formation d'une couche superficielle (d'épaisseur Δe) de molécules adsorbées ou liées, ou par le changement Δn_s d'indice de réfraction du milieu couvrant.

La **sensibilité** d'un tel capteur est inversement proportionnelle à l'épaisseur effective du guide d'ondes. En effet, plus l'épaisseur du guide est importante et moins la pénétration du champ ΔZ_s dans la sonde est grande. Ceci implique que le champ évanescent est moins perturbé par les interactions biomoléculaires qui ont lieu dans la sonde, d'où une diminution de la sensibilité de détection.

Si nous cherchons à être très sensible, l'épaisseur du guide doit donc être la plus faible possible tout en restant supérieure à l'épaisseur de coupure pour qu'un mode puisse être guidé [38].

De manière pratique, pour des systèmes dont le faisceau lumineux est couplé dans le (ou hors du) guide par un réseau, les variations d'indice effectif sont déduites de la mesure de l'angle optimal de couplage α entre le réseau et le guide.

En configuration de couplage par réseau en entrée, l'angle α est balayé pour trouver le meilleur angle de couplage qui correspond à un maximum d'intensité sur le système de détection en fonction du temps. Lukosz [39] a obtenu une **résolution** $\Delta N_{min} = 2.10^{-6}$ ($\lambda = 633 \text{ nm}$, longueur d'interaction $L = 1 \text{ mm}$), ce qui correspond à une variation d'indice minimale détectable du milieu couvrant (ou biorécepteur) de $\Delta n_{c,min} = 7.10^{-6}$, mais avec une résolution temporelle limitée par le temps de balayage (2,4 s pour l'expérience décrite dans la référence [39]).

En configuration de couplage par réseau en sortie, le faisceau laser est focalisé sur l'entrée du guide et la position du faisceau en sortie sur la barrette CCD donne directement la valeur de l'angle de couplage α . L'absence de balayage angulaire diminue le temps de réponse. Le même Lukosz [39] a obtenu une résolution $\Delta N_{min} = 5.10^{-7}$ ($\lambda = 633 \text{ nm}$, longueur d'interaction $L = 1 \text{ mm}$), ce qui correspond à une variation d'indice minimale détectable du milieu couvrant de $\Delta n_{c,min} = 2.10^{-6}$, avec une résolution temporelle submilliseconde si nécessaire.

En configuration interféromètre de polarisation, la mesure du déphasage $\Delta\phi$ entre les

modes TE_0 et TM_0 est utilisé pour déterminer les variations d'indices effectifs. Pour une longueur d'interaction $L = 17 \text{ mm}$, Stamm et al [37] annoncent une résolution de $\Delta N_{min} = 2.10^{-8}$ ($\lambda = 633 \text{ nm}$), ce qui correspond à un taux de recouvrement minimal détectable $\Delta \Gamma_{min} = 0,1 \text{ pg/mm}^2$ pour le couple biotine/avidine. Contrairement aux deux configurations précédentes basées sur la mesure de l'angle de couplage, la mesure est d'autant plus sensible que la longueur d'interaction est importante. Cela est dû au fait que le déphasage est directement proportionnel à cette longueur L , puisque le déphasage s'écrit alors $\Delta \phi = 2.\pi.L.\Delta N/\lambda$.

Cette configuration est très proche des biocapteurs basés sur les interféromètres Mach-Zehnder intégrés que nous allons maintenant décrire.

1.3.2.3 Interféromètre Mach-Zehnder intégré

Ce capteur est lui aussi basé sur l'interaction d'une onde guidée avec des biomolécules dans la région du champ évanescent.

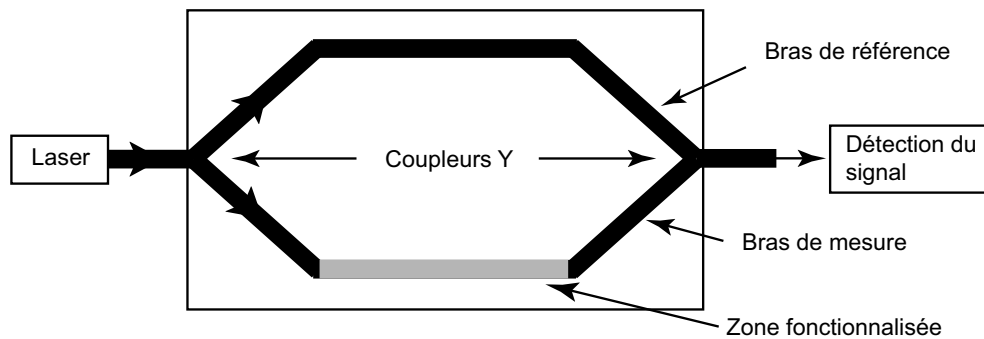


FIG. 1.4 – Interféromètre Mach-Zehnder intégré.

Le principe de l'interféromètre Mach-Zehnder de la figure 1.4 consiste à comparer le signal issu d'un guide non fonctionnalisé (bras de référence) au signal issu d'un bras fonctionnalisé avec les molécules d'intérêt. La lumière issue de la source se divise en deux au niveau du premier coupleur Y, elle se propage alors dans chacun des deux bras. Il y a recombinaison de celle-ci au niveau du second coupleur. Cette superposition cohérente de la lumière se traduit par un phénomène d'interférences des deux champs en sortie de l'interféromètre.

Le changement d'environnement du guide au niveau du champ évanescent provoque un changement de phase $\Delta \phi$.

Le signal en sortie pour l'adsorption d'une couche biologique d'épaisseur e_n et d'indice n_b

vaut alors :

$$P(t) = \frac{P_0}{2} \cdot (1 + \cos \Delta\phi(t)) \quad (1.5)$$

$$\text{avec } \Delta\phi = L \cdot \frac{2\pi}{\lambda} \cdot \left(\frac{\partial N}{\partial e_b} \cdot \Delta e_b + \frac{\partial N}{\partial n_b} \cdot \Delta n_b \right) \quad (1.6)$$

où L est la longueur d'interaction et λ la longueur d'onde du faisceau incident.

L'équation (1.6) montre que la variation de phase est directement proportionnelle à la longueur de guide fonctionnalisée. Contrairement aux capteurs décrits précédemment à l'exception du TE/TM, le système est d'autant plus sensible que L est grand. Cette longueur doit tout de même être limitée pour des raisons d'encombrement et de coût.

Le problème récurrent dans la plupart des biocapteurs est d'arriver à distinguer les interactions spécifiques des interactions non spécifiques. Ce problème peut être résolu par l'utilisation de mesures interférométriques différentielles. En effet, si les sondes ne sont déposées que sur un seul bras, les cibles passant dans les deux bras de l'interféromètre, seul les changements de phase dus aux interactions spécifiques seront mesurés.

La sensibilité obtenue en fonction des variations d'indice de réfraction du milieu couvrant est alors de l'ordre de $\Delta\phi/\Delta n_c = 2,64 \cdot 10^3 \cdot \pi$ [40]. En considérant qu'un déphasage de $\pi/20$ est détectable sans ambiguïté, la résolution en indice vaut $\Delta n_c = 2 \cdot 10^{-5}$ pour une longueur d'interaction L égale à 12 mm.

Il faut cependant noter qu'un des principaux défauts de cet interféromètre est que les variations mesurées peuvent être dues à des variations d'indice effectif de l'un ou de l'autre des bras du Mach-Zehnder sans que nous ne puissions les différencier.

1.3.2.4 Biocapteurs basés sur la SPR

Comme les capteurs basés sur les guides d'ondes ou sur les interféromètres de type Mach-Zehnder, les biocapteurs basés sur la résonance de plasmons de surface sont sensibles à la variation d'indice de réfraction ou d'épaisseur induite à la surface du capteur dans la limite de la profondeur de pénétration d'une onde évanescente.

Cette méthode est classée parmi les méthodes de détection directe (sans marqueur) en milieu hétérogène (un des deux réactifs est fixé sur la surface), avec possibilité d'avoir un suivi en temps réel des interactions étudiées.

Le phénomène de résonance plasmon de surface consiste en l'oscillation d'électrons libres à l'interface d'un métal et d'un diélectrique qui peut être entraînée par la réflexion totale d'une onde optique. L'onde évanescente créée peut en effet exciter un mode plasmon de surface sous certaines conditions (angle, longueur d'onde, polarisation du faisceau optique incident, permittivité diélectrique des différents matériaux mis en jeu). L'énergie cédée par le faisceau incident au plasmon de surface correspond à une perte d'énergie dans le faisceau réfléchi. La variation d'indice de réfraction, d'épaisseur ou de masse induite par l'association ou la dissociation des complexes modifie la réfringence du milieu et influe sur la position angulaire de la résonance plasmon.

Il existe deux méthodes d'interrogation d'un plasmon de surface :

- soit par mesure de l'angle de déviation pour une étude monochromatique ;
- soit par une mesure spectroscopique, en recherchant la longueur d'onde manquante dans le spectre, pour une étude polychromatique.

Le phénomène de résonance plasmon est complètement non spécifique et ne distingue aucunement les réactions en tant que telles. La spécificité d'analyse réside dans la sélection de paires de molécules réagissant exclusivement ou non entre elles (l'une étant greffée à la surface du métal). Chaque paire de substances qui présente des interactions spécifiques peut être analysée par cette méthode (anticorps-antigènes, ligand-récepteur, ADN-protéines,...), rapidement et sans traitement préalable des échantillons.

Plusieurs configurations existent pour mettre en évidence la résonance de plasmons de surface. Des réseaux de diffraction ou des guides optiques sont utilisés mais c'est le couplage par prisme connu sous le nom de configuration de Kretschmann qui est la structure la plus employée (Figure (1.5)).

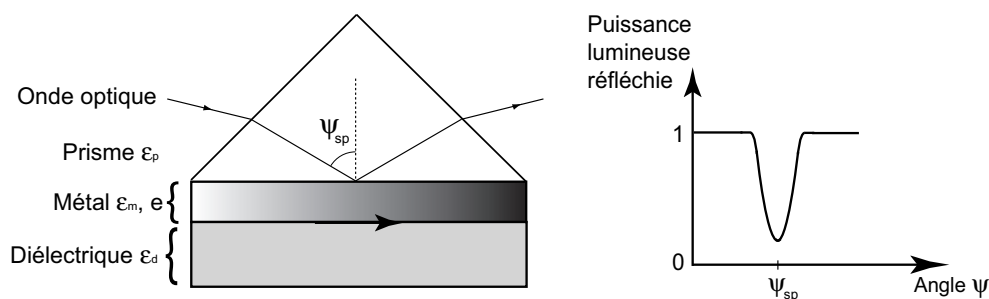


FIG. 1.5 – Couplage par un prisme d'une onde optique avec une résonance de plasmons de surface.

Depuis la mise au point de cette configuration par Kretschmann et Otto en 1968 [41]-[42], la SPR a connu un développement grandissant. Cette technologie est ainsi devenue l'instrument privilégié pour la mesure en temps réel de toute interaction biologique. Plusieurs sociétés dont la pionnière et la plus développée -Biacore AB (Suède)- ont acquis un savoir faire et une maîtrise qui place la résonance de plasmons de surface au même rang que les méthodes spectroscopiques classiques.

Des limites de détection sur une variation d'indice Δn de l'ordre de 10^{-6} sont obtenues par une étude angulaire, de 10^{-5} pour une interrogation spectrale ainsi que pour la mesure de l'intensité lumineuse.

La résolution de ce type de capteur est fortement dépendante des performances du détecteur (bruit, conversion du signal analogique-numérique), des méthodes d'analyses employées (choix des algorithmes traitant les variations du pic de résonance par exemple) [43]-[44] et des variations de température [45]-[46].

Dans l'ensemble, les biocapteurs optiques présentent une bonne implantation dans le monde industriel. En effet, des systèmes basés sur des mesures de fluorescence (Elisa) ou SPR (Biacore) sont devenus des instruments privilégiés pour la mesure en temps réel de toute interaction biomoléculaire. La tendance actuelle est à la conception de biocapteurs miniaturisés, multiparamétriques et portables.

Les fibres optiques offrent une réponse intéressante à ces nouveaux critères. C'est pourquoi, les différentes technologies développées dans les capteurs optiques traditionnels sont transférées sur les fibres optiques. De plus en plus de systèmes basés sur des perturbations de champ évanescent, ou de résonance de plasmons de surface sont étudiés et appliqués aux fibres optiques.

1.3.3 Biocapteurs à fibres optiques

Les capteurs à fibres optiques sont issus de la rencontre de deux technologies : les fibres optiques utilisées en télécommunication et l'optoélectronique. L'une et l'autre ont connu un développement extraordinaire ces deux dernières décennies : amélioration des performances, diminution des coûts et miniaturisation. Tout cela a permis l'émergence de ces capteurs dont le champ d'applications recouvre entièrement celui des capteurs traditionnels et offre également de nouvelles possibilités ainsi que de nombreux avantages :

- la fibre optique présente le plus haut degré de miniaturisation d'un composant optique ;

- elle s’affranchit des problèmes liés aux déplacements mécaniques des appareillages traditionnels (ex : prisme pour la SPR..) ;
- elle permet enfin d’obtenir des mesures dans des endroits peu accessibles ou hostiles (explosifs) et est capable de transporter l’information sur la grandeur mesurée sur une longue distance.

Actuellement très peu de systèmes basés sur des biocapteurs entièrement fibrés sont sur le marché, nous en sommes encore au stade du développement.

La partie suivante s’articule en trois points. Nous présenterons tout d’abord et de manière sommaire les fibres optiques. Puis nous définirons et classerons les différents types de biocapteurs à fibres. Cette partie s’achèvera alors sur une description générale des grandes catégories qui composent la famille des biocapteurs fibrés.

1.3.3.1 Les fibres optiques

Une fibre optique [47] est composée d’un coeur cylindrique d’indice n_c entouré d’une gaine optique transparente d’indice $n_g < n_c$ (voir figure 1.6).

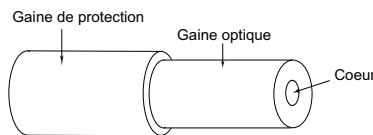


FIG. 1.6 – Fibre optique.

Les fibres optiques peuvent être classées en trois grandes catégories (figure 1.7) :

- *les fibres multimodes à saut d’indice*. Fibres qui présentent un grand nombre de modes guidés et une dispersion temporelle importante ;
- *les fibres multimodes à gradient d’indice*. Fibres qui présentent un grand nombre de modes guidés et une dispersion temporelle moyenne ;
- *les fibres monomodes*. Fibres qui présentent un seul mode guidé et une dispersion temporelle faible voire très faible.

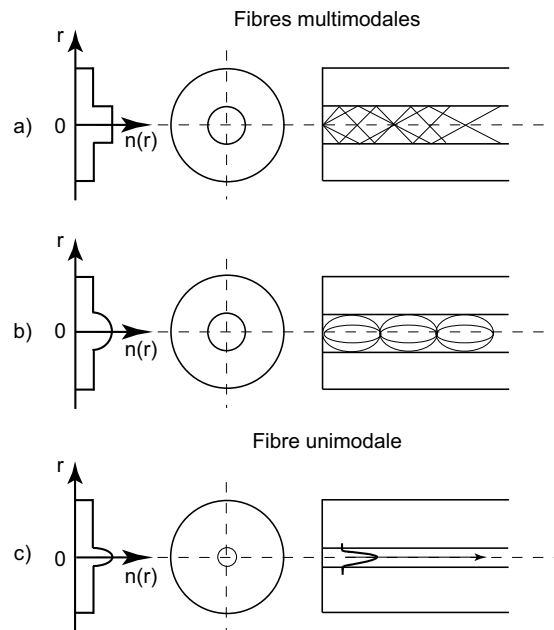


FIG. 1.7 – Fibres optiques classiques a) multimode à saut d'indice, b) multimode à gradient d'indice, c) monomode.

1.3.3.2 Définition et classement des biocapteurs à fibres.

La définition donnée par l'AFNOR⁴ pour un capteur à fibre(s) optique(s) est *un dispositif dans lequel l'information est créée dans le chemin optique par réaction de la lumière à la grandeur à mesurer, avant d'être acheminée vers le récepteur optique par l'intermédiaire d'une ou plusieurs fibres optiques.*

Cette définition exclut les assemblages comportant un capteur conventionnel et un système de transmission par fibre optique.

Un capteur à fibre se dit :

- "*extrinsèque*" lorsque les caractéristiques de la lumière sont modifiées par la grandeur à mesurer à l'extérieur de la (ou des) fibre(s) optique(s). Ce n'est pas en réalité un véritable capteur à fibre ;
- "*intrinsèque*" lorsque l'élément sensible est constitué par une (ou plusieurs) fibre(s) optique(s) dont une ou plusieurs caractéristiques de transmission, de réflexion, ou d'émission de la lumière sont des fonctions de la grandeur à mesurer. La zone sensible est

⁴Association Française de NORmalisation

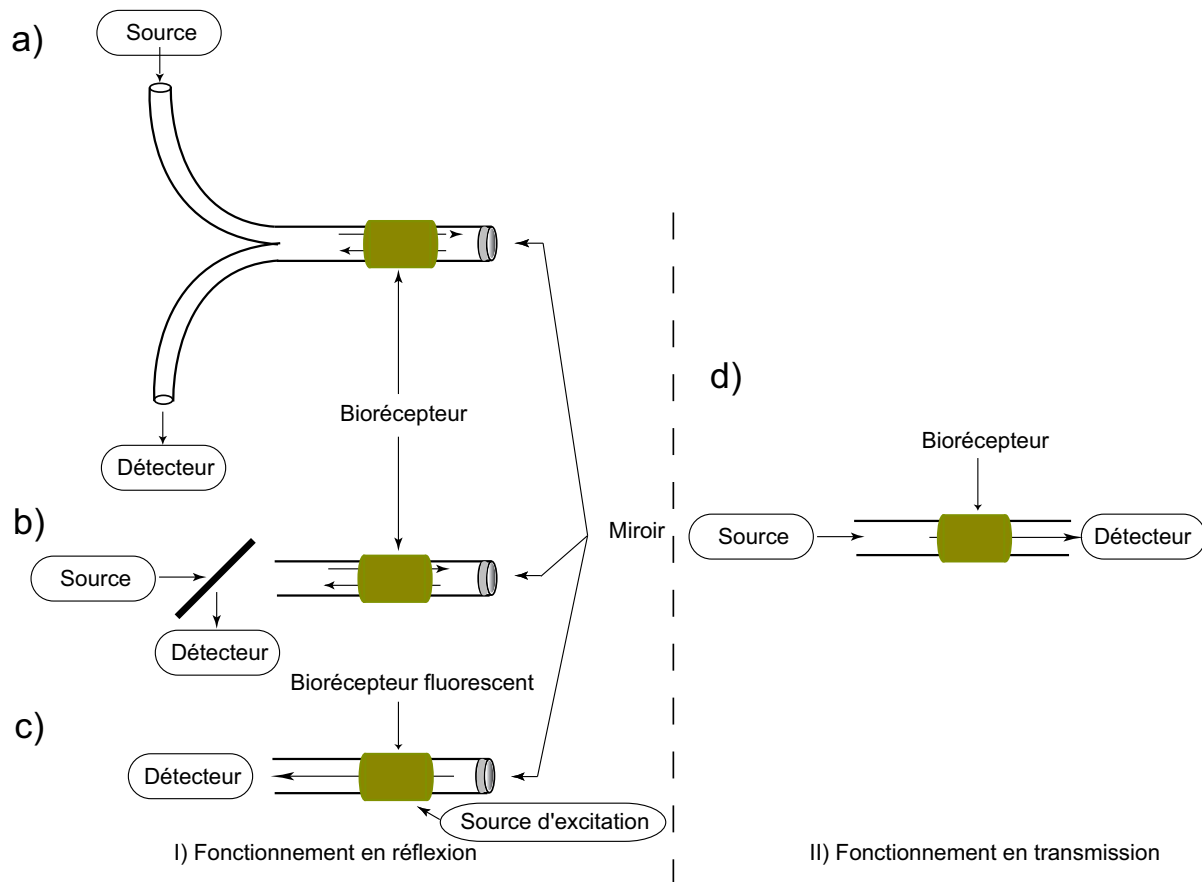
directement intégrée à la fibre.

Il existe des cas où cette définition est incomplète par exemple quand la mesure se fait à l'interface entre la fibre et le milieu extérieur, par abus de langage ce type de capteur est considéré comme un capteur intrinsèque.

D'autres critères sont aussi retenus pour le classement des biocapteurs à fibres (figure 1.8) :

- un biocapteur est "*ponctuel*" lorsque l'effet physique ou chimique est mesuré à l'extrémité de la fibre. Le biorécepteur est déposé en bout de fibre et le biocapteur ne fonctionne qu'en réflexion ;
- un biocapteur est "*continu*" lorsque la mesure se fait sur une certaine longueur. Le biorécepteur est déposé sur l'arête de la fibre à proximité du coeur. Le biocapteur présente alors deux types de fonctionnements en réflexion et en transmission.

* *Biocapteur continu*



* *Biocapteur ponctuel*

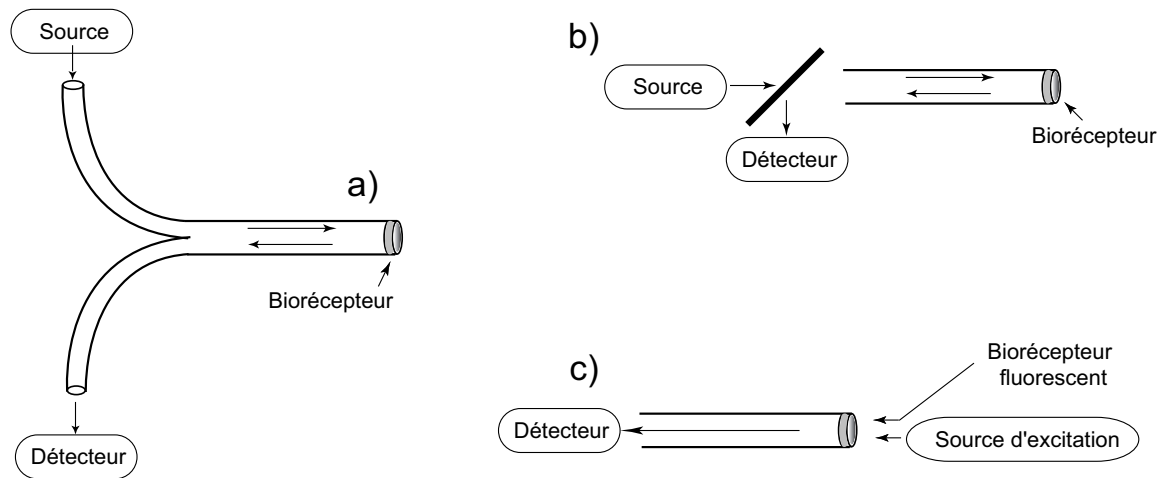


FIG. 1.8 – Configuration du biocapteur a) Faisceau de fibres bifurquées. b), d) La même fibre conduit la lumière de la source lumineuse à la sonde, et de cette dernière, au détecteur de lumière. c) La lumière émise par la sonde est conduite au détecteur par la fibre optique.

1.3.3.3 Biocapteurs à fibres intrinsèques

Les capteurs à fibres, et plus particulièrement les biocapteurs ont un champ d'applications qui recouvre entièrement celui des capteurs traditionnels. La technologie liée aux biocapteurs à fibres découle directement de la technologie utilisée pour la réalisation de capteurs traditionnels. Des méthodes basées sur des techniques optiques évanescentes, des mesures de fluorescence [48]-[49] ont été appliquées à la réalisation de biocapteurs à fibres.

Comme précédemment, nous ne citerons que les méthodes les plus couramment utilisées et plus particulièrement les méthodes basées sur des techniques évanescentes. De plus, nous nous intéresserons exclusivement aux biocapteurs *intrinsèques continus* fonctionnant de manière *directe*.

Nous présenterons tout d'abord les biocapteurs basés sur une mesure de champs évanescents directe, puis les biocapteurs basés sur la SPR. Les principes physiques mis en jeu ne seront pas abordés puisqu'ils ont été abondamment présentés dans la partie 1.3.1. Nous nous attacherons donc à décrire la structure et les limites de résolution de ces différents types de capteurs.

• Biocapteurs fibrés à ondes évanescentes

Les capteurs à fibres basés sur les techniques optiques évanescentes sont issus de la technologie des guides d'ondes. Comme nous l'avons vu précédemment (cf chapitre 1.3.1.1), un guide d'onde diélectrique est composé d'un film mince appelé structure guidante, d'indice de réfraction élevé, encadré de deux milieux d'indices plus faibles. De plus, l'épaisseur du guide doit être la plus faible possible tout en restant supérieure à l'épaisseur de coupure pour qu'un seul mode soit guidé. Les fibres optiques présentent une structure similaire à celle des guides d'ondes réalisés en optique intégré :

- la structure guidante est réalisée par le cœur de la fibre, qui présente des dimensions réduites (quelques dizaines de μm) ;
- le milieu couvrant le guide, siège des interactions biomoléculaires, est réalisé dans la gaine optique entourant le cœur de la fibre.

Ce type de biocapteur est très répandu et a subi un essor considérable à la fin des années 1980. Ils couvrent un large domaine tels que la mesure du rendement des réactions chimiques et le contrôle de biofilms bactériens [50], la détection et le contrôle des liquides [51]-[52] et des gaz [53]-[54] ainsi que la mesure de concentration [55].

Par la suite, le champ d'applications de ces capteurs s'est étendu et grandement développé pour des applications biomédicales et plus particulièrement pour des mesures *in vivo* [56]-[57].

La sonde, lieu des interactions biomoléculaires, est obtenue en dénudant la fibre jusqu'à proximité du cœur sur lequel on dépose la couche bioréceptrice. On retrouve essentiellement trois types d'architecture (voir figure 1.9) :

- a) la zone sensible peut se trouver en extrémité de fibre (pour une étude en réflexion) ou le long de la fibre (pour une étude en transmission et/ou en réflexion). Cette zone est obtenue en dénudant la fibre à proximité du cœur de celle-ci ;
- b) la zone sensible est obtenue par étirement de la fibre. La fibre est effilée par chauffage afin de diminuer ses dimensions (on passe par exemple d'une fibre de 125 μm à 6 μm de diamètre) ;
- c) la zone sensible est obtenue par polissage de la fibre. La fibre est maintenue dans un bloc réalisé en général à base de sol gel. L'ensemble est alors poli pour offrir une zone sensible à proximité du cœur.

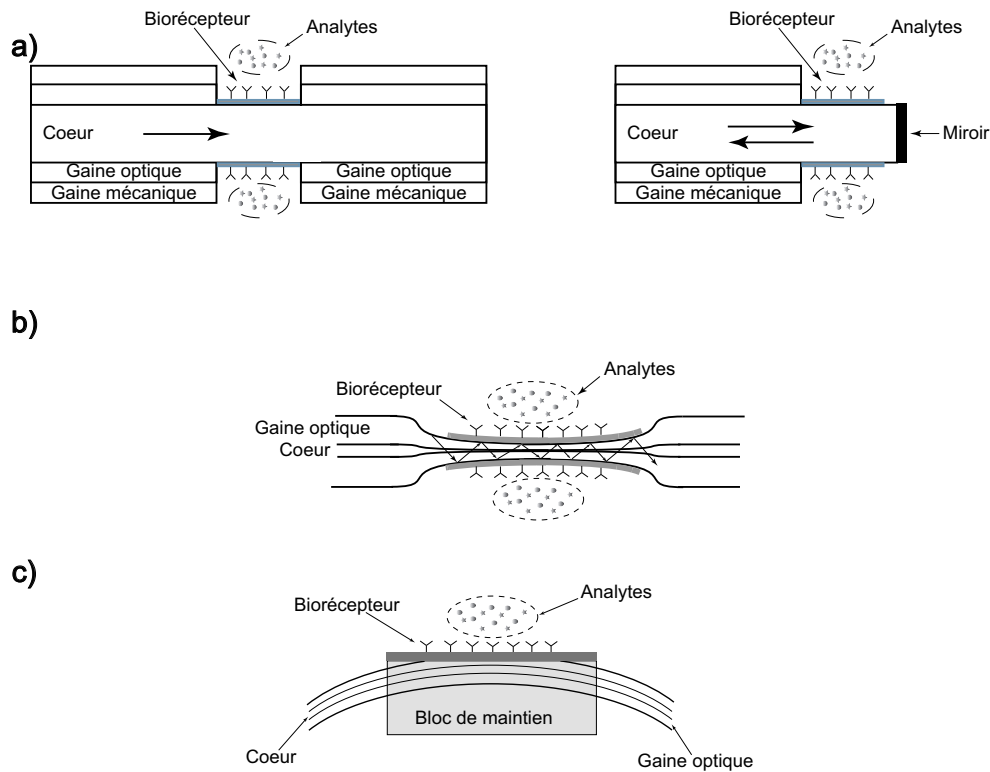


FIG. 1.9 – Exemple de structures de biocapteurs évanescents fibrés. (échelles non respectées)

Comme dans le cas de l'interféromètre de type Mach Zehnder Intégré, la sensibilité du biocapteur est liée à la longueur de la zone sensible. Cette longueur doit tout de même être limitée pour des raisons mécaniques puisqu'après ouverture de la zone sensible, la fibre est rendue plus fragile.

Une autre limite de ce type de biocapteur réside dans l'impossibilité de décorréler les variations d'indice optique et d'épaisseur de la couche bioréceptrice, d'un point de vue optique nous sommes sensibles à un mélange d'effet (variation de l'indice optique et d'épaisseur de la sonde).

Cependant comme nous l'avons vu précédemment le champ d'application de ces biocapteurs est très vaste. Le tableau (1.1) présente quelques limites de détection propres aux différentes substances étudiées pour différentes architectures.

Même s'il est difficile de comparer simplement les résultats entre eux, à titre d'exemple voilà ce que nous trouvons dans la littérature.

| <i>Nature du biocapteur</i> | <i>Élément détecté</i> | <i>Limite de détection</i> | <i>ref</i> |
|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------|
| Capteurs de gaz | Chlorofluorohydrocarbures | 0.1% en concentration | [58] |
| Immunocapteur | Salmonella | 10^4 CFU /ml | [59] |
| Substance chimique | Tropacocaïne | 10 ng/ml | [60] |
| Capteurs de bactéries | Bacillus anthracis | $3, 2 \cdot 10^5$ spores/mg | [61] |

Ces biocapteurs (*biocapteurs fibrés intrinsèques continus* fonctionnant en *direct* basés sur une mesure de champ évanescent) couvrent un large domaine dans l'étude des interactions biomoléculaire, tout en présentant une sensibilité très proche de celle des biocapteurs optiques traditionnels. Cependant, l'implantation de ce type de biocapteurs dans le domaine industriel n'est pas encore aboutie.

Nous nous intéressons à présent aux biocapteurs basés sur une mesure de résonance de plasmons de surface. L'excitation de plasmon de surface dans les fibres, et donc les biocapteurs basés sur ce principe de mesure, peut être considérée comme une extension des biocapteurs fibrés à ondes évanescents.

• Biocapteurs fibrés à plasmon de surface

L'architecture des capteurs SPR fibrés est issue de la technologie des capteurs évanescents. Comme précédemment, trois types d'architecture sont principalement développés .

L'utilisation d'une fibre optique comme capteur à plasmon de surface a été proposée pour la première fois par Jorgenson [62]. La configuration retenue est de type **a**) (voir figure 1.9) et le biocapteur travaille alors en réflexion. Pour ce type de biocapteur, une résolution maximale (sur la variation d'indice optique) comprise entre $4, 5 \cdot 10^{-5}$ et $7, 5 \cdot 10^{-5}$ a été mesurée dans une gamme d'indice comprise entre 1, 2 et 1, 4.

Le second modèle étudié par Tubb [63] (type **b**, figure 1.9)) présente une fibre monomode effilée recouverte d'une fine couche métallique. Ce système présente une limite de détection maximale δn égale à $5 \cdot 10^{-4}$ pour une longueur d'onde de 740 nm. Cette valeur est relativement faible comparée aux systèmes décrits précédemment mais elle présente l'avantage de la simplicité.

En 2001, un montage similaire a démontré une limite de résolution dix fois supérieure [64].

Le dernier type de biocapteur présenté (type c, figure 1.9) est composé par une fibre unimo-

dale polie, nous pouvons citer par exemple le système développé par Slavik [65]. En interrogation spectrale de la lumière transmise, ce système a été capable de mesurer des variations minimales d'indice de réfraction de 5.10^{-7} .

Malgré des performances identiques à celles mesurées avec une optique massive, de l'ordre de 10^{-6} unité de réfraction (dans une gamme d'indice de 1 à 1,5), et un degré de miniaturisation et de flexibilité inégalé, les biocapteurs fibrés intrinsèques basés sur la SPR n'ont pas encore connu de réelles applications commerciales, ceci est en partie dû à un coût de réalisation trop élevé.

1.4 Conclusion

Cet état de l'art des différents types de biocapteurs nous a permis d'entrevoir une de leurs principales originalités : leurs caractères multisectoriel. Le champ d'application des biocapteurs est vaste et on comprend alors l'engouement et plus particulièrement l'intérêt porté à ces systèmes depuis la fin des années 80. Les enjeux économiques sont énormes.

De nombreux biocapteurs ont été développés. Nous avons présenté de manière générale les trois grandes catégories de capteurs qui composent la famille des biocapteurs "non optiques". Ces biocapteurs sont relativement répandus mais présentent encore un coût de réalisation très élevé ainsi qu'un haut degré de difficulté de conception.

Les biocapteurs optiques ont un développement plus récent mais présentent déjà une bonne implantation dans le monde industriel. En effet, des systèmes basés sur des mesures de fluorescence (Elisa) ou SPR (Biacore) sont devenus des instruments privilégiés pour la mesure en temps réel de toute interaction biomoléculaire. La tendance actuelle est à la conception de biocapteurs miniaturisés, multiparamétriques et portables. Les fibres optiques offrent une bonne réponse à ces nouveaux critères. Un transfert de technologie a été effectué afin d'adapter les biocapteurs optiques sur des fibres optiques.

Un grand nombre de biocapteurs fibrés intrinsèques, présentant des performances identiques à celles des biocapteurs traditionnels, ont été développés. Malgré cela, ces systèmes ont encore un coût de fabrication trop élevé limitant ainsi leurs expansions industrielles.

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail de thèse. Nous souhaitons réaliser un bio-

capteur fibré, présentant des performances identiques aux capteurs déjà développés, mais dont le coût de fabrication serait relativement plus faible, nous offrant ainsi une possible commercialisation.

Chapitre 2

Description du biocapteur réalisé et des phénomènes physiques mis en jeu

2.1 Introduction

Nous venons de présenter une grande variété de biocapteurs dédiés à l'analyse des interactions biomoléculaires. Nous pouvons donc désormais penser à une structure de sonde qui réponde au mieux aux différentes demandes actuelles, tout en s'inspirant de ce qui existe déjà.

Pour cela, nous introduirons dans une première partie la structure de notre biocapteur, avec une description des éléments fondamentaux du système. Puis, dans un second temps, nous nous intéresserons aux aspects théoriques des différents éléments qui le composent.

Une des principales difficultés, liée au capteur proprement dit, réside dans la pertinence et la validation des données "brutes" en termes de propriétés d'usage et de grandeurs physiques exploitables. Pour connaître la réponse du biocapteur en fonction de la grandeur recherchée, il est indispensable d'appréhender son comportement dans le milieu de mesure. Cette étude théorique est une partie de ce travail, qui sera complétée dans le troisième chapitre.

2.2 Description du biocapteur

2.2.1 Cahier des charges du biocapteur réalisé

L'objectif de notre travail est de réaliser un capteur multicible sur une fibre unique ou, dit autrement dans le langage développé au chapitre 1, nous souhaitons réaliser *un biocapteur fibré intrinsèque continu et multicible fonctionnant en direct*. Ce type de biocapteur offre de nombreux atouts :

- la réalisation d'un biocapteur intrinsèque entraîne une intégration complète de la zone sensible dans la fibre (cf chapitre 1.3.3.2), et donc une miniaturisation extrême du capteur ;
- le fonctionnement en continu assure une mesure sur une certaine longueur de fibre et offre deux types de fonctionnements possibles : soit en réflexion, soit en transmission (cf chapitre 1.3.3.2). La résolution du capteur est alors directement reliée à la longueur de la zone sensible ;
- le biocapteur est utilisé de manière directe, c'est-à-dire sans marqueurs (cf chapitre 1.1). L'absence de marquage dans les biocapteurs optiques est extrêmement avantageuse. En effet :
 - ★ elle simplifie la procédure de préparation des échantillons et d'utilisation des biocapteurs [66] ;
 - ★ la mesure s'affranchit de l'influence possible des marqueurs sur la fonctionnalité des molécules détectées ;
 - ★ elle permet de contrôler toutes les étapes de détection, de la fonctionnalisation à l'interaction biomoléculaire d'intérêt en passant par les interactions intermédiaires (les méthodes indirectes ne permettent que de contrôler l'étape mettant en jeu les molécules marquées).

Le caractère multicible de notre capteur sera d'autant mieux utilisé que la technique d'interrogation d'une de ses composantes sera souple. Ainsi, la possibilité d'effectuer une détection parallèle sur les différentes cibles de notre biocapteur peut être là aussi avantageuse. Elle offrirait :

- un gain de temps en évitant de refaire plusieurs fois l'expérience avec des sondes différentes ;
- une réduction de la consommation de produits biologiques testés ;
- le suivi en parallèle et au même instant (i.e. dans les mêmes conditions) des réactions ;
- une simplification dans la comparaison des résultats en fonction de la sonde (plus aisée grâce à de plus faibles variations intra analyses).

Le cahier des charges relatif à notre système nous oblige à répondre à de nombreuses exigences. Dans ces conditions le choix des différents constituants du biocapteur est primordial

et plus particulièrement celui du transducteur qui doit répondre aux différentes attentes énoncées.

Nous allons nous attacher maintenant à expliquer les choix structuraux effectués compte tenu du cahier des charges développé ci-dessus.

2.2.2 Principe général

Comme nous l'avons vu dans le chapitre 1, un biocapteur est composé de trois éléments :

- un système d'interrogation (chaîne d'amplification et de traitement du signal)
- un transducteur
- une bio-réaction (sonde/analytes)

Le choix du système d'interrogation est primordial. Il doit être précis, relativement simple à mettre en œuvre et d'un coût faible. Dans l'ensemble des techniques d'interférométrie classiques, la modulation de cohérence est une méthode qui répond parfaitement à ces différents critères.

Cette technique de détection repose sur l'utilisation d'interféromètres et plus particulièrement d'interféromètres à deux ondes. Les plus employés sont de types Michelson et Mach-Zehnder. Ces systèmes sont des interféromètres à deux voies ce qui nécessiterait dans notre cas l'utilisation de fibres optiques en parallèle. Cette solution est bien sûr à proscrire puisqu'elle ne correspond pas au cahier des charges. Dans ces conditions et dans le but d'obtenir une miniaturisation extrême, nous réaliserons un interféromètre en "ligne" sur une fibre unique. Cet interféromètre en "ligne" sera de type cavité Fabry-Pérot intrinsèque (figure 2.1).

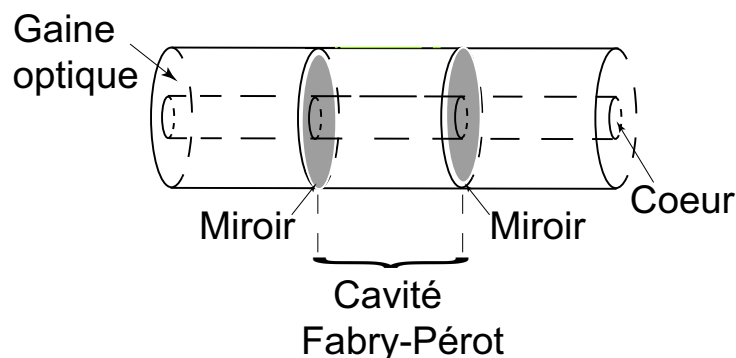


FIG. 2.1 – Cavité Fabry-Pérot intrinsèque.

Les caractéristiques du Fabry-Pérot (réflectivité, finesse, longueur de cavité..) sont imposées par le système d'interrogation et seront définis par la suite.

L'interféromètre ainsi réalisé est la partie passive du transducteur. Il est sensible aux variations d'indice effectif vu par l'onde guidée dans la fibre. De fait, pour rendre le capteur sensible aux paramètres extérieurs de la fibre, il faut que ceux-ci puissent modifier, par couplage, les conditions de guidage de l'onde dans le cœur de la fibre. Ce couplage sera dans notre cas obtenu en réalisant l'ouverture d'une fenêtre d'analyse (figure 2.2) à proximité du cœur de la fibre et située entre les deux miroirs composant la cavité Fabry-Pérot. Cette ouverture sur l'arête de la fibre confère au biocapteur un fonctionnement en continu.

Cette fenêtre d'analyse est la partie "active" du transducteur. Une modification des propriétés de l'interface entraîne une perturbation du champ évanescent et donc une modification des propriétés de la cavité Fabry-Pérot. Ces modifications sont détectées par modulation de cohérence et permettent ainsi de remonter à l'information de base recherchée.

Un grand nombre de biocapteurs utilisent les propriétés de confinement des modes évanescents. L'onde évanescente, comme nous l'avons vu, a la propriété d'être confinée au voisinage de la sonde, siège des interactions biomoléculaires. Cette onde se révèle extrêmement sensible à de très petites variations d'indices ou d'épaisseurs optiques, ce qui autorise la mesure de très faibles concentrations chimiques.

Comme nous l'avons vu, pour ce type de biocapteur la sonde est obtenue en dégainant complètement la fibre à proximité du cœur. L'architecture retenue est donc une variante de celle des capteurs évanescents de type (a) présentés sur la figure 1.9. Cependant, du fait des nombreuses contraintes mécaniques liées à la réalisation de notre biocapteur, la fibre ne sera pas complètement dégainée afin d'éviter une trop grande fragilité de celle-ci. Nous nous proposons de développer une nouvelle structure adaptée à nos différents travaux. Cette architecture est détaillée sur les figures 2.2, 2.3, 2.4.

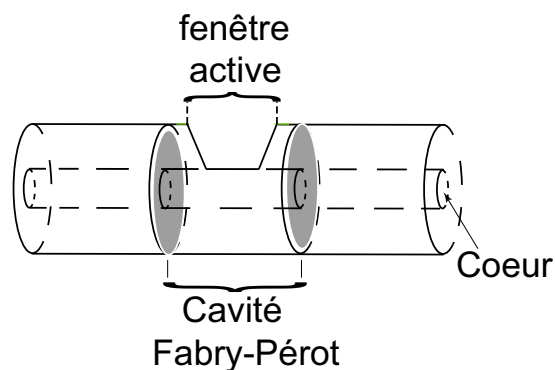


FIG. 2.2 – Ouverture de la fenêtre active.

La sonde (ou biorécepteur) du biocapteur est alors obtenue par dépôt d'une monocouche d'un agent chimique (figure 2.3).

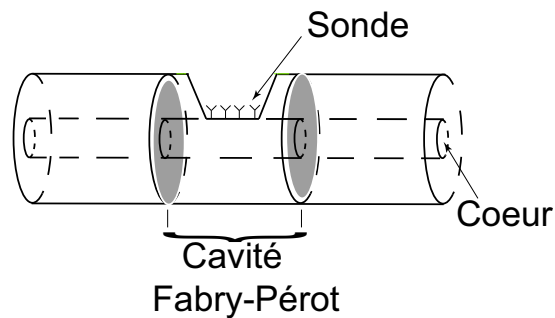


FIG. 2.3 – Déposition de la sonde ou biorécepteur.

La sonde fixe de manière sélective les analytes dont nous voulons mesurer la concentration (figure 2.4). L'assemblage des molécules sur l'interface perturbe la propagation de l'onde évanescente et entraîne des variations de phase et d'amplitude du faisceau réfléchi se propageant dans la fibre.

Cette fonctionnalisation du biocapteur permet alors une mesure directe sans marquage préalable des analytes.

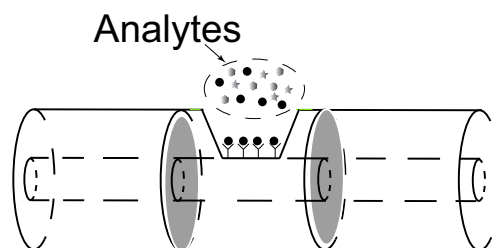


FIG. 2.4 – Schéma général de notre biocapteur.

La structure de notre biocapteur nous permet de répondre aux trois principales exigences du cahier des charges. Cette architecture bien particulière ainsi que le système d'interrogation nous offrent en prime la possibilité de satisfaire aux différentes attentes énoncées :

- le principe de fonctionnement du transducteur s'articulant autour de deux méthodes de métrologie optique (interférométrie, perturbation du champ évanescent), il entraîne une augmentation de la sensibilité du biocapteur ;

- l'architecture du biocapteur ainsi que l'utilisation de la modulation de cohérence comme système d'interrogation ouvrent la voie à une détection parallèle, c'est-à-dire à la réalisation d'un biocapteur multiparamétrique. Nous réalisons sur une même fibre plusieurs biocapteurs fonctionnalisés différemment, identifiés par des longueurs de cavités elles aussi distinctes (figure 2.5).

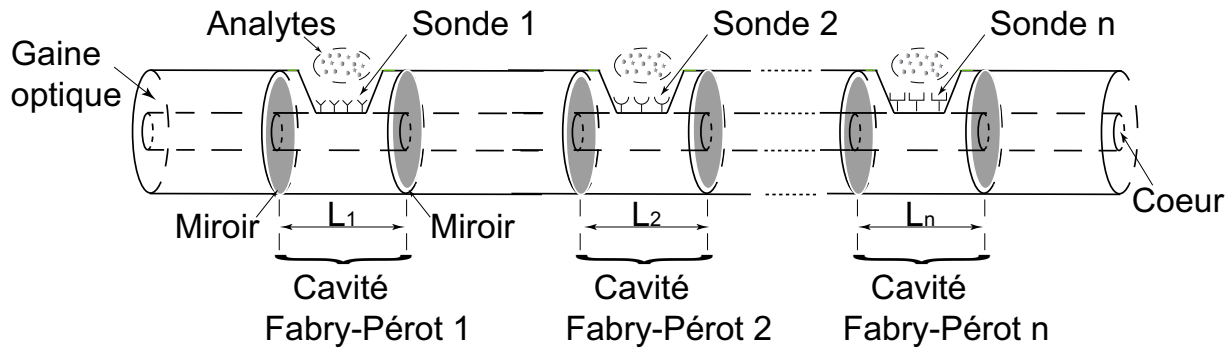


FIG. 2.5 – Schéma général du biocapteur multiparamétrique.

Après avoir présenté la structure de notre biocapteur et son fonctionnement, il est intéressant de déterminer théoriquement les caractéristiques des différents éléments qui le composent (transducteur, chaîne d'amplification et de traitement du signal).

Nous nous intéresserons en premier lieu au système d'interrogation du biocapteur : nous rappellerons tout d'abord et de manière succincte ce qu'est la modulation de cohérence, afin d'en comprendre les implications sur les propriétés de notre interféromètre intrinsèque de Fabry-Pérot. L'étude se portera ensuite sur la partie passive du transducteur, avec une description complète de la cavité. Enfin nous décrirons la partie active du transducteur, c'est-à-dire la zone de transduction biologie-optique, et plus particulièrement les variations théoriques de l'indice effectif de l'onde guidée dans la fibre optique au cours de la réaction biochimique.

2.3 Interrogation du biocapteur

2.3.1 Principe de la modulation de cohérence

Le principe général [67]-[68] de la modulation de cohérence est basé sur l'introduction de retards optiques entre les paquets d'ondes émis par des sources optiques à faible longueur de

cohérence.

La figure 2.6 illustre le principe de codage et de décodage.

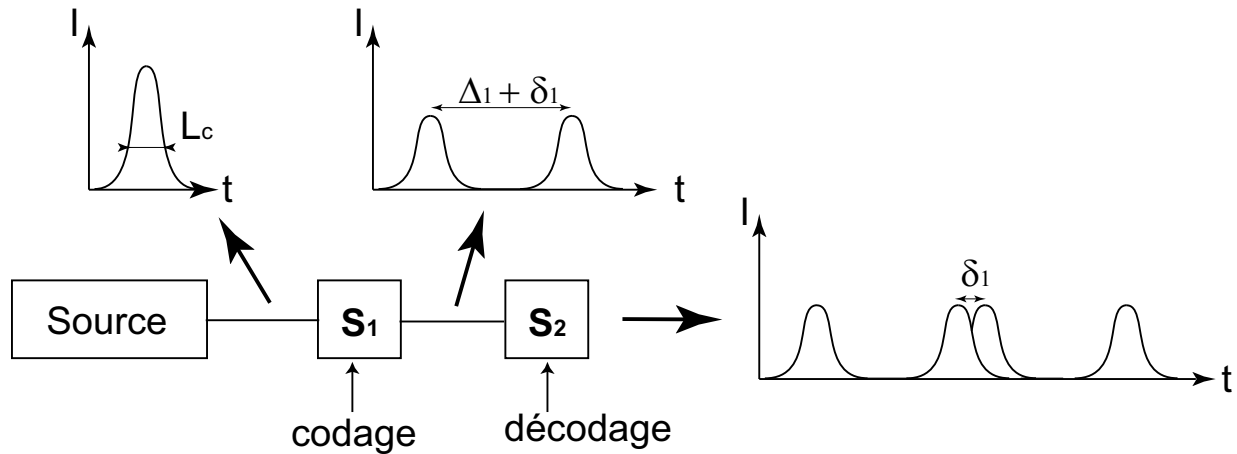


FIG. 2.6 – Illustration du codage par modulation de cohérence dans le cas où un système de codage S_1 est utilisé.

Une source de lumière émet un train d'onde dont la longueur de cohérence est notée L_c . Ce train d'onde qui traverse le système S_1 sera codé, c'est-à-dire que ce dernier sera séparé temporellement en deux parties. La séparation induite peut être décrite par un retard optique $\Delta_1 + \delta_1$ qui est plus grand que la longueur de cohérence L_c . Le rôle de Δ_1 est de permettre le multiplexage des différents canaux d'information, tandis que δ_1 sert au codage de l'information désirée (avec $\delta_1 < L_c < \Delta_1$). Nous pouvons identifier Δ_1 à la porteuse et δ_1 au signal à transmettre.

Pour recouvrer les informations transmises sur le canal, il suffit d'utiliser un système S_2 identique à S_1 (à la modulation δ_1 près). Un détecteur placé après le système recueillera l'intensité liée directement à δ_1 et donc à l'information codée sur le canal.

La mise en œuvre de ce type de système fait appel à des sources optiques à faible longueur de cohérence ainsi qu'à des dispositifs capables d'introduire des retards optiques importants. Ces dispositifs sont le plus souvent des interféromètres à deux ondes.

De plus, plusieurs systèmes de codage et décodage peuvent être utilisés afin de transmettre, sans diaphonie, plusieurs informations en utilisant une seule source de lumière (codage en série ou parallèle et décodage en parallèle) et des retards $\Delta_1, \Delta_2, \dots, \Delta_n$ judicieusement choisis. Il faut cependant garder à l'esprit que ce nombre n est limité afin de conserver un niveau d'intensité suffisant en sortie de système.

Cette description temporelle de la modulation de cohérence a son pendant dans le domaine fréquentiel. Dans cette seconde description, nous nous limitons au cas où la modulation est apportée par un interféromètre à deux ondes (par exemple Michelson, Mach-Zehnder).

La fonction de transfert d'un tel appareil dans le domaine spectral s'écrit :

$$T(\Delta, \sigma) = \frac{M}{2} [1 \pm \cos 2\pi\sigma\Delta] \quad (2.1)$$

Où σ représente le nombre d'onde et Δ est le retard optique introduit par l'interféromètre.

Tout spectre optique pondéré par la fonction $T(\Delta, \sigma)$ possède une structure cannelée provenant de la modulation de forme cosinusoidale de l'équation 2.1. Si le retard Δ est modulé, c'est-à-dire si $\Delta = \Delta_0 + \delta$, les cannelures sont globalement translatées et légèrement dilatées. L'étage de décodage travaillant sur un retard égal à Δ_0 et n'étant pas modulé, sa fonction de transfert reste fixe. Le détecteur, qui somme l'intensité de chaque composante spectrale, effectue alors la mesure des coïncidences des cannelures introduites par les deux étages (figure 2.7).

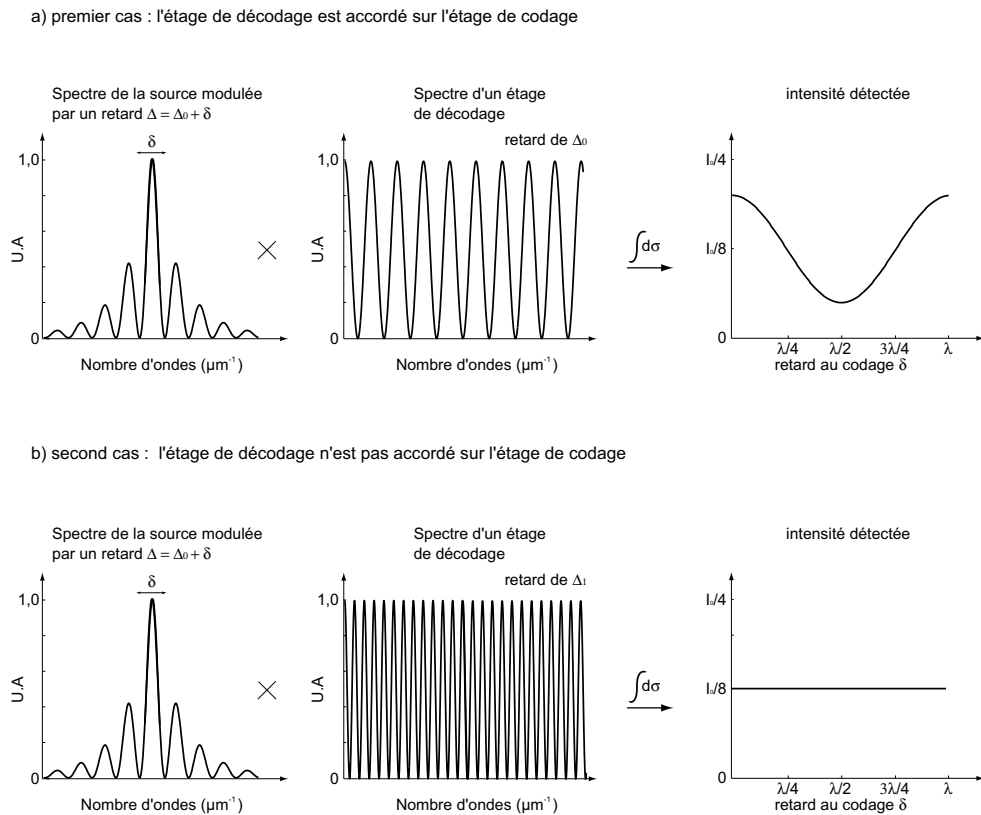


FIG. 2.7 – Comparaison des spectres cannelés pour deux systèmes de décodages différents (I_0 puissance totale émise).

Dans le cas où l'étage de décodage n'est pas accordé sur l'étage de codage, la condition de coïncidence des cannelures n'est jamais obtenue. Spectralement ce désappariement des étages se traduit par l'existence de deux fonctions de transfert dont les périodes de modulation sont très éloignées l'une de l'autre. L'opération d'intégration effectuée par le détecteur équivaut, au final, à intégrer une fonction qui présente un grand nombre d'oscillations. La valeur de l'intensité détectée ne dépend alors que très faiblement de la position relative des deux systèmes de cannelures l'un par rapport à l'autre et reste constante.

2.3.2 Application de la modulation de cohérence à notre étude

La figure 2.8 illustre le système d'interrogation de notre biocapteur.

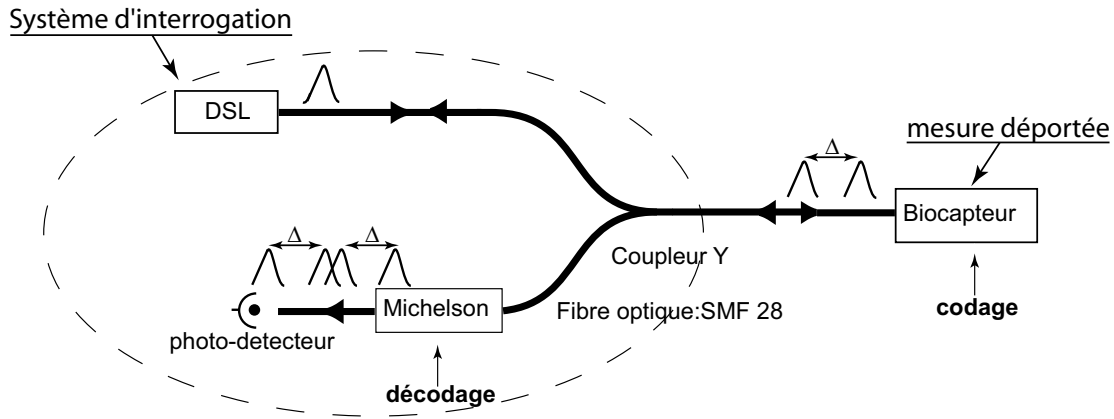


FIG. 2.8 – Interrogation en réflexion du biocapteur par modulation de cohérence.

Dans notre cas, le système de codage est constitué par la partie passive du biocapteur. La modulation est donc assurée par l'interféromètre de Fabry-Pérot. Comme nous l'avons dit précédemment, les dispositifs les plus utilisés lors de la modulation de cohérence sont des interféromètres à deux ondes. C'est pourquoi, nous allons chercher à ce que notre cavité se comporte comme tel.

Nous pouvons alors montrer (cf. chapitre 2.4.1) que la fonction de transfert en réflexion d'une cavité Fabry-Pérot dans le domaine spectral s'écrit :

$$T_C(\Delta, \sigma) = \frac{I^{(r)}}{I^{(i)}} = \frac{M}{2} [1 - \cos 2\pi\sigma\Delta] \quad (2.2)$$

Avec :

$$M = \frac{4R}{(1 - R)^2} \quad (2.3)$$

où R est le coefficient de réflexion en intensité des deux miroirs. L'expression 2.2 sera démontrée et explicitée dans la partie 2.4.1.

Ici, σ représente le nombre d'onde et Δ le retard introduit par l'interféromètre. Ce retard optique est légèrement modulé lors des interactions biomoléculaires au niveau de la sonde et s'écrit :

$$\Delta = \Delta_0 + \delta \quad (2.4)$$

où δ est le retard optique dû aux interactions biomoléculaires lors des réactions d'intérêt.

Comme en modulation de cohérence classique, le décodage est assuré par un interféromètre de Michelson. L'étage de décodage est accordé sur l'étage de codage, c'est-à-dire sur le retard Δ_0 de la cavité Fabry-Pérot du biocapteur avant les réactions d'interactions biomoléculaires.

La fonction de transfert dans le domaine spectral de cet appareil s'écrit alors :

$$T_M(\Delta_0, \sigma) = \frac{1}{2}[1 + \cos(2\pi\Delta_0\sigma)] \quad (2.5)$$

L'intensité détectée par le photo-détecteur après décodage (cf. figure 2.8) s'écrit donc :

$$I(\Delta_0, \delta) = \int \frac{|S(\sigma)|^2}{2} \cdot \frac{M}{2} [1 - \cos 2\pi\sigma(\Delta_0 + \delta)] \cdot [1 + \cos(2\pi\Delta_0\sigma)] \cdot d\sigma \quad (2.6)$$

où $|S(\sigma)|^2$ représente la densité spectrale de puissance de la source.

Le développement de l'équation 2.6 permet d'obtenir une relation reliant l'intensité détectée et le retard optique δ . Dans ce développement, seul les termes dépendant uniquement de δ ne tendent pas vers 0.

L'équation 2.6 se simplifie alors sous la forme :

$$I(\delta) = I_o \cdot \frac{M}{4} \cdot [1 - \frac{1}{2} \cos 2\pi\sigma_o\delta] \quad (2.7)$$

avec : $I_o = \int |S(\sigma)|^2 \cdot d\sigma$ et où σ_o représente le nombre d'onde moyen de la source.

Pour accéder à une détection linéaire [68] de l'intensité, via l'interféromètre de décodage, il faut effectuer un déphasage de $\pi/2$ dans l'expression 2.7.

Cette expression s'écrit alors :

$$I(\delta) = I_o \cdot \frac{M}{4} \cdot [1 - \frac{1}{2} \sin 2\pi\sigma_o\delta] \quad (2.8)$$

de plus si $2\pi\sigma_o\delta \ll 1$, l'expression 2.8 s'écrit sous la forme linéarisée :

$$I(\delta) = I_o \cdot \frac{M}{4} \cdot [1 - \pi\sigma_o\delta] \quad (2.9)$$

L'équation 2.9 nous donne donc l'expression théorique de l'intensité détectée par le photodétecteur (cette expression théorique sera utilisée dans le chapitre 3). Ce sont ces variations d'intensité que nous allons mesurer afin de déterminer les variations de δ et ainsi remonter à l'information de base recherchée lors de la réaction biomoléculaire, c'est-à-dire la concentration d'analytes présents dans la solution testée.

Comme nous l'avons vu précédemment, la modulation de cohérence impose l'utilisation d'interféromètres à deux ondes, et donc des contraintes bien particulières sur la partie passive de notre biocapteur.

C'est pourquoi nous rappellerons tout d'abord le principe de fonctionnement d'un interféromètre de Fabry-Pérot. Puis nous étudierons l'influence de l'intégration d'une fenêtre d'analyse au sein de notre cavité.

2.4 Description de l'interféromètre de Fabry-Pérot

2.4.1 Principe d'un interféromètre de Fabry-Pérot

Un interféromètre de Fabry-Pérot est une cavité optique constituée de deux miroirs parallèles semi-réfléchissants, séparés par un milieu d'indice n' et d'épaisseur l_c .

Dans notre cas, cet interféromètre est intégré dans une fibre optique monomode. Pour simplifier, nous considérons que les coefficients de Fresnel des miroirs sont ceux d'une onde plane en incidence normale (la distance de Rayleigh du faisceau gaussien - associé fictivement en première approximation au mode fondamental de la fibre - est de l'ordre de $60 \mu\text{m}$ avec un rayon de courbure de l'ordre de $3,7 \text{ mm}$). On peut donc considérer, vues les épaisseurs des miroirs réalisés, que les ondes incidentes sont planes et d'incidence nulle).

Dans ces conditions, le principe général sur lequel repose l'interféromètre demeure inchangé. Il est illustré figure 2.9.

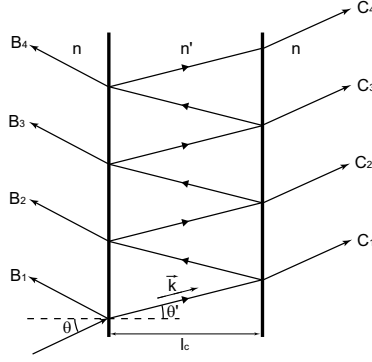


FIG. 2.9 – Schéma de principe d'une cavité Fabry-Pérot intrinsèque.

Une onde plane présentant un angle d'incidence θ sur le miroir d'entrée du système donne lieu à une infinité d'ondes réfléchies B_1, B_2, \dots, B_p et d'ondes transmises C_1, C_2, \dots, C_p qui, lorsqu'elles sont en phases, interfèrent de façon constructive.

À chaque aller retour, au cours d'un passage dans la cavité, l'onde subit un déphasage noté φ que nous pouvons déterminer en considérant le vecteur d'onde noté \vec{k} sur la figure 2.9 :

$$\varphi = \frac{4\pi}{\lambda} n' l_c \cos \theta' \quad (2.10)$$

Où θ' et λ représentent respectivement l'angle de réfraction dans la cavité et la longueur d'onde, l_c et n' la longueur et l'indice de la cavité. Dans notre cas, nous travaillons en incidence normale d'où $\theta' = 0$.

Après diverses étapes purement calculatoires, nous obtenons l'expression classique de l'intensité totale réfléchie :

$$I^{(r)} = A^{(r)} A^{(r)*} = \frac{4R \sin^2(\frac{\varphi}{2})}{(1 - R)^2 + 4R \sin^2(\frac{\varphi}{2})} I^{(i)} \quad (2.11)$$

Avec $I^{(i)} = A^{(i)} A^{(i)*}$ l'intensité de l'onde incidente.

Par un raisonnement similaire nous obtenons l'expression de l'intensité totale transmise :

$$I^{(t)} = \frac{T^2}{(1 - R)^2 + 4R \sin^2(\frac{\varphi}{2})} I^{(i)} \quad (2.12)$$

Avec $T^2 = 1 - R^2$

Les expressions des intensités totales transmises et réfléchies peuvent être mises sous la forme suivante :

$$\frac{I^{(r)}}{I^{(i)}} = \frac{M \sin^2\left(\frac{\varphi}{2}\right)}{1 + M \sin^2\left(\frac{\varphi}{2}\right)} \quad (2.13a)$$

$$\frac{I^{(t)}}{I^{(i)}} = \frac{1}{1 + M \sin^2\left(\frac{\varphi}{2}\right)} \quad (2.13b)$$

Avec :

$$M = \frac{4R}{(1 - R)^2} \quad (2.14)$$

La courbe de répartition de l'intensité lumineuse réfléchie par un interféromètre de Fabry-Pérot est représentée figure 2.10.

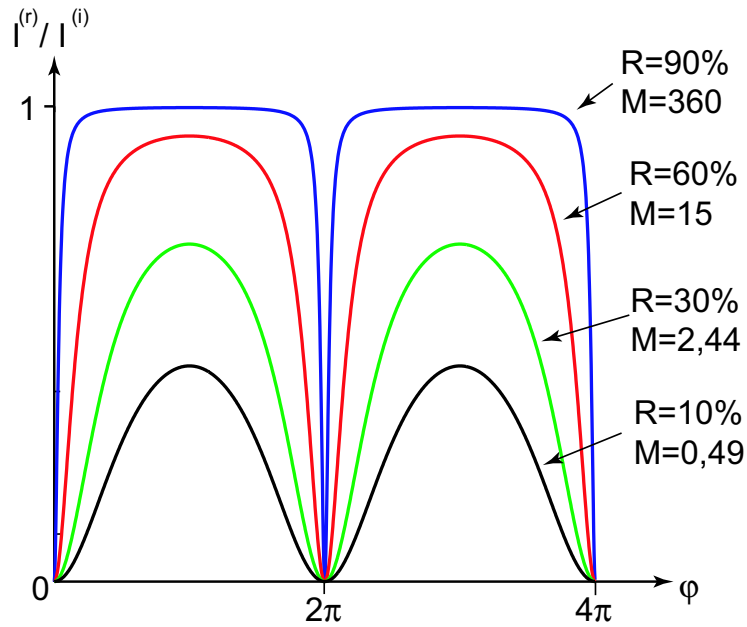


FIG. 2.10 – Répartition de l'intensité lumineuse réfléchie par un interféromètre de Fabry-Pérot pour différents coefficients de réflexion.

Nous observons que pour de faibles valeurs de R et donc de M , l'intensité réfléchie par l'interféromètre est proche d'une sinusoïde.

En effet, lorsque $R \ll 1$, M devient lui aussi très petit devant l'unité. Nous pouvons alors effectuer un développement limité des expressions 2.13a et 2.13b et ne retenir que les termes d'ordre 1 en M .

D'où :

$$\frac{I^{(r)}}{I^{(i)}} \sim M \sin^2\left(\frac{\varphi}{2}\right) = \frac{M}{2}(1 - \cos \varphi) \quad (2.15a)$$

$$\frac{I^{(t)}}{I^{(i)}} \sim 1 - M \sin^2\left(\frac{\varphi}{2}\right) = 1 - \frac{M}{2}(1 - \cos \varphi) \quad (2.15b)$$

Nous obtenons alors les expressions 2.15a et 2.15b qui représentent les intensités totales transmises et réfléchies par notre interféromètre dans le cas où le coefficient de réflexion des miroirs est très petit devant 1. Ces deux expressions sont caractéristiques d'un interféromètre à deux ondes. On peut donc conclure que pour des valeurs de réflexion des miroirs très petites, l'interféromètre de Fabry-Pérot se comporte comme un interféromètre à deux ondes.

Ainsi, la cavité Fabry-Pérot que nous souhaitons réaliser devra présenter ces différentes caractéristiques, c'est-à-dire une réflectivité en intensité des miroirs comprise entre 10% et 15%.

2.4.2 Intégration de la fenêtre d'analyse dans la cavité Fabry-Pérot

Le couplage entre le milieu extérieur et l'onde guidée dans la fibre optique est obtenu par l'ouverture d'une fenêtre d'analyse entre les deux miroirs qui composent la cavité (figure 2.11). Cette fenêtre d'analyse, qui constitue la partie active du transducteur, modifie le fonctionnement de notre interféromètre.

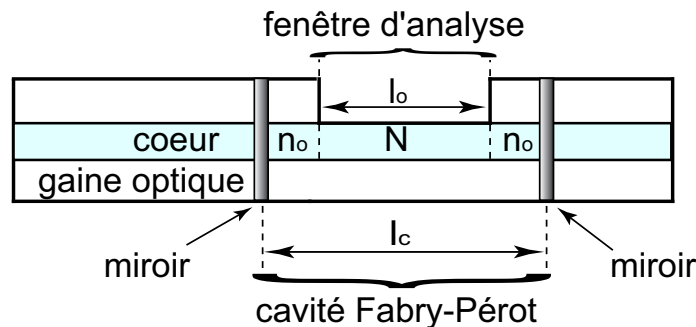


FIG. 2.11 – Architecture du biocapteur.

Ici :

- l_c est la longueur de la cavité ;
- l_o est la longueur de l'ouverture ;
- n_o est l'indice de la cavité hors ouverture ;
- N^o est l'indice effectif de l'onde guidée au niveau de l'ouverture avant la réaction biomoléculaires ;
- N est l'indice de la cavité au niveau de l'ouverture ; $N = N^o + \Delta N$.
- ΔN est la variation d'indice effectif de l'onde guidée au niveau de l'ouverture pendant la réaction biomoléculaire ;

La perturbation du spectre cannelé de l'interféromètre est dans notre cas due à une variation d'indice effectif de l'onde guidée dans la fibre. Or cette variation est localisée au niveau de la fenêtre d'analyse, elle dépend alors du paramètre l_o .

Afin de déterminer un indice optique n_c relatif à l'ensemble de la cavité, nous effectuons l'approximation linéaire au premier ordre suivante :

$$n_c = \frac{n_o(l_c - l_o) + l_o N}{l_c} \quad (2.16)$$

C'est dans cette équation (2.16) que se fait le lien entre la partie active et passive du transducteur. Nous voyons ainsi apparaître l'influence de la fenêtre active sur la fonction de transfert en réflexion de l'interféromètre (équation 2.15a).

Dans cette partie, nous avons tout d'abord rappelé brièvement le principe de fonctionnement d'un interféromètre de Fabry-Pérot. Cela nous a permis de définir les coefficients de réflexion des miroirs à réaliser pour que cette cavité Fabry-Pérot puisse être utilisée avec une détection par modulation de cohérence. Les valeurs obtenues se situent dans une gamme allant de 10% à 15%. Nous avons ensuite déterminé de manière générale et théorique l'influence de l'intégration d'une fenêtre d'analyse au sein de la cavité. Cette nouvelle expression (2.16) de l'indice optique nous sera d'une grande utilité lors de la validation expérimentale de notre biocapteur.

Nous allons à présent étudier la zone de transduction biologique-optique et nous intéresser plus particulièrement aux variations théoriques de l'indice effectif de l'onde guidée dans la fibre, au cours de la réaction biochimique.

2.5 Perturbation d'une onde guidée par le milieu

2.5.1 Introduction

La partie active du transducteur est basée sur une perturbation du champ évanescent. Comme nous l'avons vu précédemment (chapitre 1.3.1), un grand nombre de biocapteurs optiques utilisent les propriétés de confinement des modes évanescents.

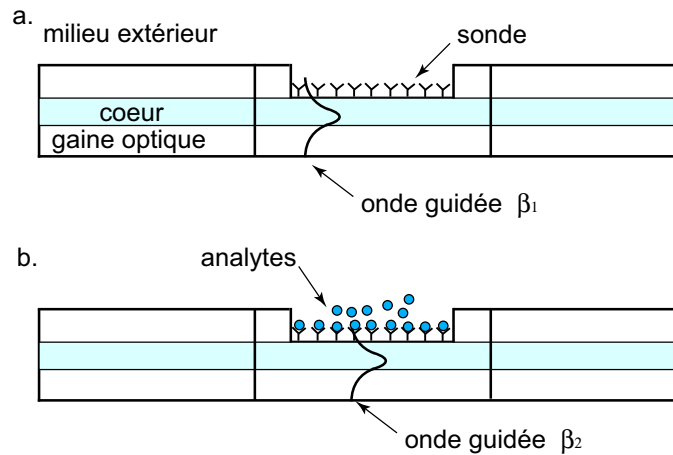


FIG. 2.12 – Deux états du biocapteur.

Une perturbation au niveau de l'interface cœur/sonde se traduit par un changement ΔN de l'indice effectif vu par l'onde guidée. Cette variation ΔN peut être induite par la formation d'une couche superficielle (d'épaisseur Δd_1) des molécules liées, et/ou par le changement Δn_1 d'indice de réfraction du milieu couvrant (sonde).

Dans cette dernière partie, nous étudierons tout d'abord l'influence de ces deux paramètres (Δd_1 et Δn_1) sur la variation d'indice ΔN . Puis, nous observerons l'influence de la profondeur d'ouverture de notre fenêtre active sur ΔN .

2.5.2 Influence des différents paramètres de la sonde

Dans un premier temps, nous étudierons plus précisément le système de couplage matière/lumière de notre biocapteur défini par :

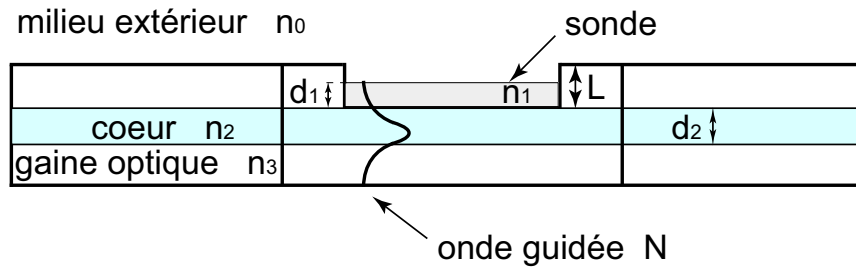


FIG. 2.13 – Propagation d'une onde lumineuse dans le biocapteur.

où :

- L est la profondeur de la fenêtre active ;
- d_1 est l'épaisseur de la couche bioréceptrice ;
- d_2 est le diamètre du cœur de la fibre ;
- n_0 est l'indice de réfraction du milieu extérieur ;
- n_1 est l'indice de réfraction du milieu couvrant (sonde) ;
- n_2 est l'indice de réfraction du cœur de la fibre ;
- n_3 est l'indice de réfraction de la gaine optique ;
- N est l'indice effectif vu par l'onde guidée.

Nous souhaitons déterminer l'influence des variations d'épaisseur Δd_1 et d'indice Δn_1 de la sonde sur l'onde guidée dans le cœur de la fibre et plus particulièrement les variations d'indice effectif ΔN vues par cette onde.

L'idée est d'obtenir une relation de la forme :

$$\Delta N = f(n_1, n_2, \dots, N) \cdot \Delta n_1 + g(n_1, n_2, \dots, N) \cdot \Delta d_1 \quad (2.17)$$

Nous allons tout d'abord établir une relation liant les trois paramètres (Δn_1 , Δd_1 , ΔN) qui semblent primordiaux pour la suite de nos travaux, ce qui nous permettra ensuite d'exploiter cette relation afin d'obtenir diverses informations théoriques sur le fonctionnement de notre biocapteur.

2.5.2.1 Détermination théorique

La structure de notre biocapteur est circulaire et un calcul analytique de l'influence d'une ouverture sur les conditions de guidage d'une onde n'est pas faisable analytiquement. Nous avons donc cherché dans un premier temps à étudier l'effet des couches perturbatrices dans le cas d'une structure plane. Dans un deuxième temps nous avons affiné notre étude en effectuant des

simulations sur une structure dont la géométrie se rapproche de notre système. La structure plane étudiée (figure 2.14) présente des caractéristiques similaires à celles de notre biocapteur (elle est, entre autre, déterminée pour être monomode).

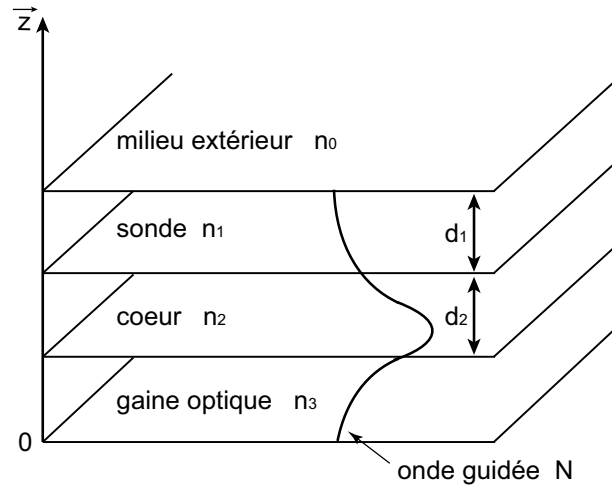


FIG. 2.14 – Propagation d'une onde lumineuse dans le guide plan.

Pour l'étudier, nous nous appuyerons sur le formalisme développé dans l'article [69]. En utilisant les notations de l'article, on trouve facilement que le coefficient de réflexion en amplitude de la structure multicouche de la figure 2.14 s'écrit :

$$R = \frac{R_{0,1} + R_{1,2} + R_{2,3} + R_{0,1} \cdot \overline{R_{1,2}} \cdot R_{2,3}}{1 + \overline{R_{0,1}} \cdot R_{1,2} + \overline{R_{0,1}} \cdot R_{2,3} + \overline{R_{1,2}} \cdot R_{2,3}} \quad (2.18)$$

Avec :

$$R_{p,p+1} = r_{p,p+1} \cdot \exp(2.i \cdot \sum_{q=1}^p \beta_q) \quad (2.19)$$

$$\beta_q = k_q \times d_q \quad (2.20)$$

Où

- d_p est l'épaisseur de la $p^{ième}$ couche
- $r_{p,p+1}$ est le coefficient de Fresnel à l'interface des couches p et p+1
- $k_p = k \cdot \sqrt{n_p^2 - N^2}$ (où $k=2.\pi/\lambda$) est la projection du vecteur d'onde sur l'axe des \vec{z} (axe perpendiculaire aux couches), .

Dans ce formalisme un mode est guidé dans la structure multicouche si le dénominateur s'annule (i.e. présence d'un pôle dans l'expression 2.18), soit :

$$1 + \overline{R_{0,1}} \cdot R_{1,2} + \overline{R_{0,1}} \cdot R_{2,3} + \overline{R_{1,2}} \cdot R_{2,3} = 0 \quad (2.21)$$

En injectant l'expression de $R_{p,p+1}$ dans l'équation 2.21, nous obtenons l'expression suivante :

$$r_{0,1} \cdot r_{1,2} \cdot e^{2i\beta_1} + r_{0,1} \cdot r_{2,3} \cdot e^{2i(\beta_1+\beta_2)} + r_{1,2} \cdot r_{2,3} \cdot e^{2i\beta_2} = -1 \quad (2.22)$$

L'équation 2.22 doit être maintenant développée afin d'obtenir une expression de la forme 2.17.

Au cours de la réaction biomoléculaire, les paramètres de la sonde sont amenés à évoluer. L'indice de réfraction n_1 et l'épaisseur d_1 de la sonde peuvent varier, entraînant une variation de l'indice effectif N vu par l'onde guidée.

Ces variations étant très faibles, nous effectuons un développement limité à l'ordre 1 des grandeurs suivantes :

$$\begin{aligned} r_{0,1} &\rightarrow r_{0,1} + \frac{\partial r_{0,1}}{\partial N} \cdot \Delta N + \frac{\partial r_{0,1}}{\partial n_1} \cdot \Delta n_1 \\ r_{1,2} &\rightarrow r_{1,2} + \frac{\partial r_{1,2}}{\partial N} \cdot \Delta N + \frac{\partial r_{1,2}}{\partial n_1} \cdot \Delta n_1 \\ r_{2,3} &\rightarrow r_{2,3} + \frac{\partial r_{2,3}}{\partial N} \cdot \Delta N \\ e^{2i\beta_1} &\rightarrow e^{2i\beta_1} + \frac{\partial e^{2i\beta_1}}{\partial N} \cdot \Delta N + \frac{\partial e^{2i\beta_1}}{\partial n_1} \cdot \Delta n_1 + \frac{\partial e^{2i\beta_1}}{\partial d_1} \cdot \Delta d_1 \\ e^{2i\beta_2} &\rightarrow e^{2i\beta_2} + \frac{\partial e^{2i\beta_2}}{\partial N} \cdot \Delta N \end{aligned}$$

Ces différentes grandeurs sont ensuite injectées dans l'équation 2.22. Nous obtenons alors l'expression générale qui donne la variation ΔN de l'indice effectif vu par l'onde guidée dans le cœur de notre système en fonction des variations d'indice Δn_1 et d'épaisseur Δd_1 de la sonde.

L'expression générale est donc la suivante :

$$\begin{aligned}
\Delta N. [& (r_{1,2} \cdot \frac{\partial r_{0,1}}{\partial N} + r_{0,1} \cdot \frac{\partial r_{1,2}}{\partial N} + 2.i.d_1.r_{0,1}.r_{1,2} \cdot \frac{\partial k_1}{\partial N}) . e^{2ik_1 d_1} + \\
& (r_{2,3} \cdot \frac{\partial r_{0,1}}{\partial N} + r_{0,1} \cdot \frac{\partial r_{2,3}}{\partial N} + 2.i.d_1.r_{0,1}.r_{2,3} \cdot \frac{\partial k_1}{\partial N} + 2.i.d_2.r_{0,1}.r_{2,3} \cdot \frac{\partial k_2}{\partial N}) . e^{2i(k_1 d_1 + k_2 d_2)} + \\
& (r_{2,3} \cdot \frac{\partial r_{1,2}}{\partial N} + r_{1,2} \cdot \frac{\partial r_{2,3}}{\partial N} + 2.i.d_2.r_{1,2}.r_{2,3} \cdot \frac{\partial k_2}{\partial N}) . e^{2ik_2 d_2}] = \\
- [& (r_{1,2} \cdot \frac{\partial r_{0,1}}{\partial n_1} + r_{0,1} \cdot \frac{\partial r_{1,2}}{\partial n_1} + 2.i.d_1.r_{0,1}.r_{1,2} \cdot \frac{\partial k_1}{\partial n_1}) . e^{2ik_1 d_1} + \\
& (r_{2,3} \cdot \frac{\partial r_{0,1}}{\partial n_1} + 2.i.d_1.r_{0,1}.r_{2,3} \cdot \frac{\partial k_1}{\partial n_1}) . e^{2i(k_1 d_1 + k_2 d_2)} + r_{2,3} \cdot \frac{\partial r_{1,2}}{\partial n_1} . e^{2ik_2 d_2}] \Delta n_1 \\
- [& 2.i.k_1.r_{0,1}.r_{1,2} . e^{2.i.k_1.d_1} + 2.i.k_1.r_{0,1}.r_{2,3} . e^{2.i.(k_1.d_1 + k_2.d_2)}] . \Delta d_1
\end{aligned} \tag{2.23}$$

Cette expression générale dépend des coefficients de Fresnel, et donc des modes de polarisation. Nous obtiendrons alors deux expressions générales relatives au mode TE et TM.

• **mode TE :**

Le coefficient de Fresnel à l'interface des couches p et p+1 pour le mode TE s'écrit :

$$r_{p,p+1} = \frac{k_p - k_{p+1}}{k_p + k_{p+1}} \tag{2.24}$$

Nous pouvons alors écrire :

$$\frac{\partial r_{p,p+1}}{\partial N} = \frac{2.k^2}{k_p k_{p+1}} r_{p,p+1} . N \quad \text{et} \quad \frac{\partial k_p}{\partial N} = -\frac{k^2}{k_p} N \tag{2.25}$$

Nous introduisons alors ces trois expressions dans l'équation 2.23. Après de multiples étapes de calcul, nous déduisons l'équation 2.26 qui donne la relation de dépendance entre ΔN et $(\Delta n_1, \Delta d_1)$ pour le mode TE.

$$\begin{aligned}
\Delta N = & \\
- \frac{n_1}{N} . [& \frac{\beta_1.r_{0,1}.r_{1,2}.e^{2.i.k_1.d_1} + \beta_2.r_{0,1}.r_{2,3}.e^{2.i.(k_1.d_1 + k_2.d_2)} + \beta_3.r_{1,2}.r_{2,3}.e^{2.i.k_2.d_2}}{\alpha_1.r_{0,1}.r_{1,2}.e^{2.i.k_1.d_1} + \alpha_2.r_{0,1}.r_{2,3}.e^{2.i.(k_1.d_1 + k_2.d_2)} + \alpha_3.r_{1,2}.r_{2,3}.e^{2.i.k_2.d_2}}] . \Delta n_1 \\
- \frac{i.k_1}{N.k^2} . [& \frac{r_{0,1}.e^{2.i.k_1.d_1} . (r_{1,2} + r_{2,3}.e^{2.i.k_2.d_2})}{\alpha_1.r_{0,1}.r_{1,2}.e^{2.i.k_1.d_1} + \alpha_2.r_{0,1}.r_{2,3}.e^{2.i.(k_1.d_1 + k_2.d_2)} + \alpha_3.r_{1,2}.r_{2,3}.e^{2.i.k_2.d_2}}] . \Delta d_1
\end{aligned} \tag{2.26}$$

où :

$$\alpha_1 = \frac{1}{k_1} \cdot \left(\frac{1}{k_0} + \frac{1}{k_2} - i \cdot d_1 \right) \quad (2.27a)$$

$$\alpha_2 = \frac{1}{k_0 \cdot k_1} + \frac{1}{k_2 \cdot k_3} - \frac{i \cdot d_1}{k_1} - \frac{i \cdot d_2}{k_2} \quad (2.27b)$$

$$\alpha_3 = \frac{1}{k_2} \cdot \left(\frac{1}{k_1} + \frac{1}{k_3} - i \cdot d_2 \right) \quad (2.27c)$$

et :

$$\beta_1 = \frac{k_1}{k_0} \cdot \frac{1}{k_0^2 - k_1^2} + \frac{k_2}{k_1} \cdot \frac{1}{k_1^2 - k_2^2} + i \cdot \frac{d_1}{k_1} \quad (2.28a)$$

$$\beta_2 = \frac{k_1}{k_0} \cdot \frac{1}{k_0^2 - k_1^2} + i \cdot \frac{d_1}{k_1} \quad (2.28b)$$

$$\beta_3 = \frac{k_2}{k_1} \cdot \frac{1}{k_1^2 - k_2^2} \quad (2.28c)$$

Nous appliquons le même principe pour le mode TM.

• mode TM :

Le coefficient de Fresnel à l'interface des couches p et p+1 pour le mode TM s'écrit :

$$r_{p,p+1} = \frac{n_{p+1}^2 \cdot k_p - n_p^2 \cdot k_{p+1}}{n_{p+1}^2 \cdot k_p + n_p^2 \cdot k_{p+1}} \quad (2.29)$$

Nous pouvons alors écrire :

$$\frac{\partial r_{p,p+1}}{\partial N} = \frac{2 \cdot k^2 \cdot N}{k_p \cdot k_{p+1}} \cdot A_{p+1} \cdot r_{p,p+1} \quad (2.30)$$

$$\text{avec : } A_{p+1} = n_p^2 \cdot n_{p+1}^2 \cdot \frac{k_p^2 - k_{p+1}^2}{n_{p+1}^4 \cdot k_p^2 + n_p^2 \cdot k_{p+1}^2} \quad (2.31)$$

et :

$$\frac{\partial r_{p,p+1}}{\partial n_1} = \frac{2 \cdot k_p}{k_{p+1}} \cdot B_{p+1} \cdot r_{p,p+1} \quad (2.32)$$

$$\text{avec : } B_{p+1} = n_p^2 \cdot n_{p+1}^2 \cdot \frac{2 \cdot k_p^2 - n_{p+1}^2 \cdot k_{p+1}^2}{n_{p+1}^4 \cdot k_p^2 + n_p^2 \cdot k_{p+1}^2} \quad (2.33)$$

Comme précédemment, nous introduisons ces deux expressions dans l'équation 2.23. Nous déduisons l'équation 2.34 qui donne la relation de dépendance entre ΔN et $(\Delta n_1, \Delta d_1)$ pour le mode TM.

$$\begin{aligned}
\Delta N = & -\frac{1}{N.k^2} \cdot \left[\frac{\beta_1.r_{0,1}.r_{1,2}.e^{2.i.k_1.d_1} + \beta_2.r_{0,1}.r_{2,3}.e^{2.i.(k_1.d_1+k_2.d_2)} + \beta_3.r_{1,2}.r_{2,3}.e^{2.i.k_2.d_2}}{\alpha_1.r_{0,1}.r_{1,2}.e^{2.i.k_1.d_1} + \alpha_2.r_{0,1}.r_{2,3}.e^{2.i.(k_1.d_1+k_2.d_2)} + \alpha_3.r_{1,2}.r_{2,3}.e^{2.i.k_2.d_2}} \right] \cdot \Delta n_1 \\
& -\frac{i.k_1}{N.k^2} \cdot \left[\frac{r_{0,1}.e^{2.i.k_1.d_1} \cdot (r_{1,2} + r_{2,3}.e^{2.i.k_2.d_2})}{\alpha_1.r_{0,1}.r_{1,2}.e^{2.i.k_1.d_1} + \alpha_2.r_{0,1}.r_{2,3}.e^{2.i.(k_1.d_1+k_2.d_2)} + \alpha_3.r_{1,2}.r_{2,3}.e^{2.i.k_2.d_2}} \right] \cdot \Delta d_1
\end{aligned} \tag{2.34}$$

où :

$$\alpha_1 = \frac{1}{k_1} \cdot \left(\frac{A_1}{k_0} + \frac{A_2}{k_2} - i.d_1 \right) \tag{2.35a}$$

$$\alpha_2 = \frac{A_1}{k_0.k_1} + \frac{A_3}{k_2.k_3} - \frac{i.d_1}{k_1} - \frac{i.d_2}{k_2} \tag{2.35b}$$

$$\alpha_3 = \frac{1}{k_2} \cdot \left(\frac{A_2}{k_1} + \frac{A_3}{k_3} - i.d_2 \right) \tag{2.35c}$$

et :

$$\beta_1 = \frac{k_1}{k_0} \cdot B_1 + \frac{k_1}{k_2} \cdot B_2 + i \cdot \frac{d_1.k^2}{k_1} \cdot n_1 \tag{2.36a}$$

$$\beta_2 = \frac{k_0}{k_1} \cdot B_1 + i \cdot \frac{d_1.k^2}{k_1} \cdot n_1 \tag{2.36b}$$

$$\beta_3 = \frac{k_1}{k_2} \cdot B_2 \tag{2.36c}$$

2.5.2.2 Exploitation des résultats théoriques

Nous avons obtenu précédemment des relations de la forme :

$$\Delta N = f(n_1, \dots) \cdot \Delta n_1 + g(n_1, \dots) \cdot \Delta d_1 \tag{2.37}$$

Ces relations diffèrent suivant le mode de polarisation retenu pour l'étude. Deux équations 2.26 et 2.34 similaires sont à notre disposition.

Nous nous plaçons dans le cas proche de celui de la fibre visée, c'est-à-dire une fibre monomode SMF 28, dont l'indice de cœur est égal à 1,4675 et l'indice de gaine est égal à 1,4617. La longueur d'onde de travail est quant à elle égale à 1,31 μm . Nous devons donc considérer une structure plane (figure 2.14) monomode pour cette longueur d'onde. Dans ces conditions l'épaisseur du guide d_2 peut être comprise entre 4 et 5 μm . De ce fait, l'épaisseur du guide retenue pour la suite de nos calcul est 4,5 μm . Nous posons aussi :

- $n_0=1,33$: indice du milieu extérieur (eau) ;
- $n_2=1,4675$: indice du cœur ;
- $n_3=1,4617$: indice de la gaine optique ;

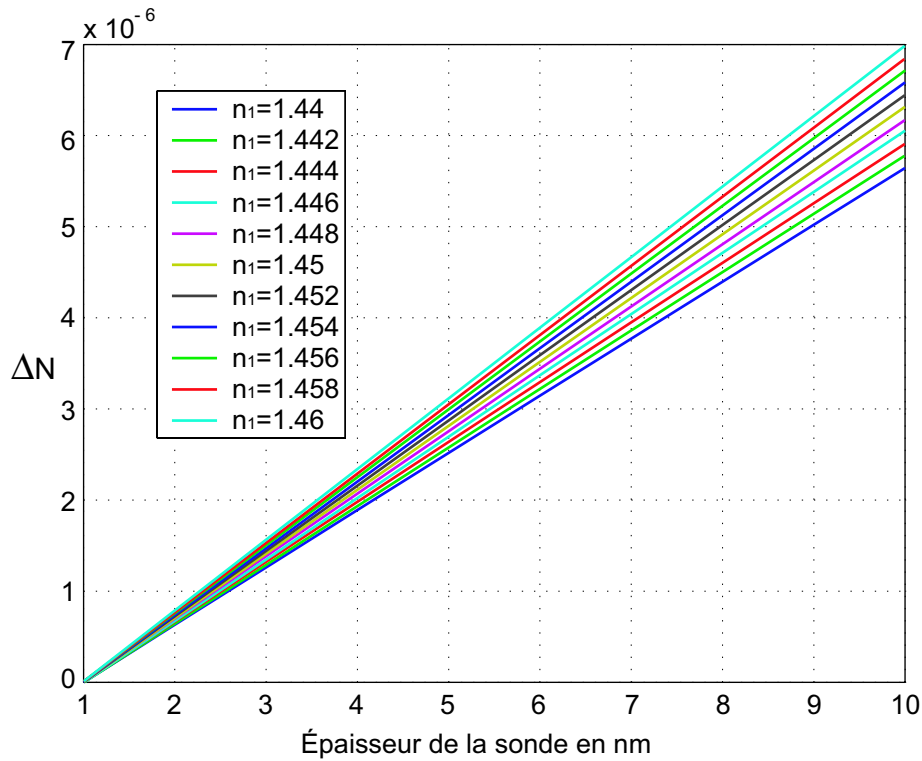
On s'intéresse alors à la variation ΔN de l'indice effectif de l'onde guidée en fonction des variations d'épaisseur Δd_1 et d'indice Δn_1 de la sonde. Les plages de variations de l'épaisseur et de l'indice de la sonde sont les suivantes :

- $\Delta d_1 \in [1; 10] \text{ nm}$. Nous verrons que cette plage est celle obtenue dans le cas des biocouches (cf chapitre 3).
- $\Delta n_1 \in [1, 44; 1, 46]$. En général, les estimations faites sur la variation d'indice d'une biocouche, sont de l'ordre de 10^{-3} . Ici nous nous sommes placés dans le cas le plus large en considérant les 2 valeurs d'indices extrêmes [70]-[71] rencontrées dans la littérature pour des couches biologiques.

Nous obtenons ainsi 4 courbes différentes (2 pour le cas TE, 2 pour le cas TM) :

- 1^{er} cas : on considère que lors des interactions biomoléculaires qui ont lieu au niveau de la sonde, la variation d'indice Δn_1 est nulle (figures 2.15 et 2.16 courbes a.). La variation ΔN est uniquement dépendante de la variation d'épaisseur Δd_1 .
- 2nd cas : on considère que lors des interactions biomoléculaires qui ont lieu au niveau de la sonde, la variation d'épaisseur Δd_1 est nulle (figures 2.15 et 2.16 courbes b.). La variation ΔN est uniquement dépendante de la variation d'indice Δn_1 .

a) ΔN en fonction de l'épaisseur de la sonde pour différents indices optiques n_1 .



b) ΔN en fonction de l'indice optique de la sonde pour différentes épaisseurs d_1 .

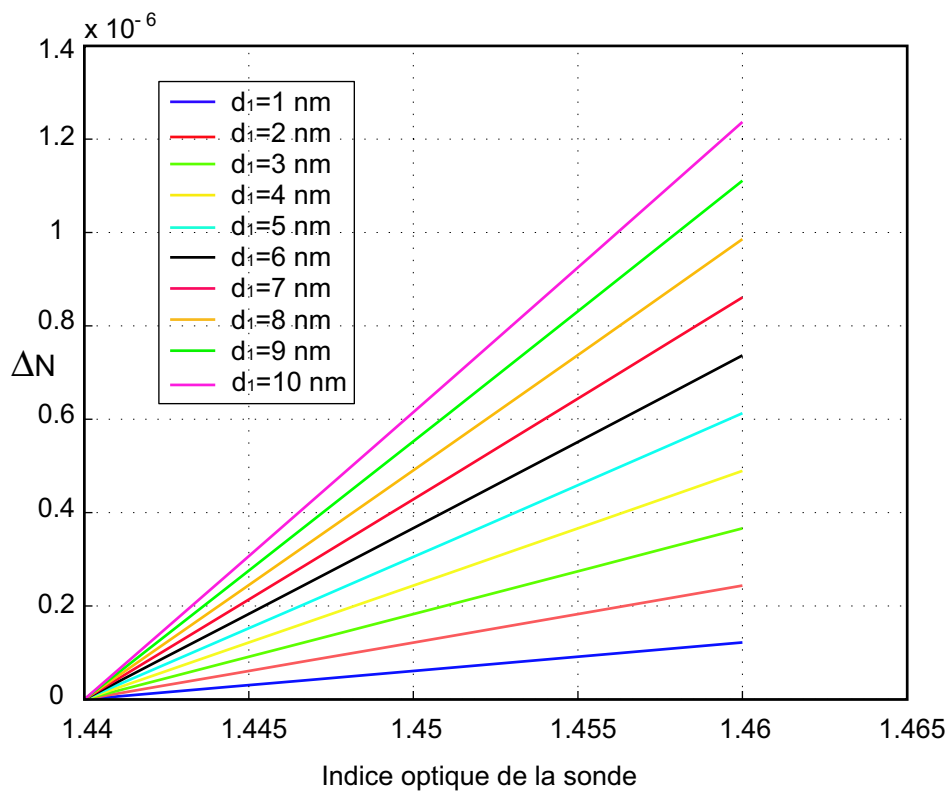
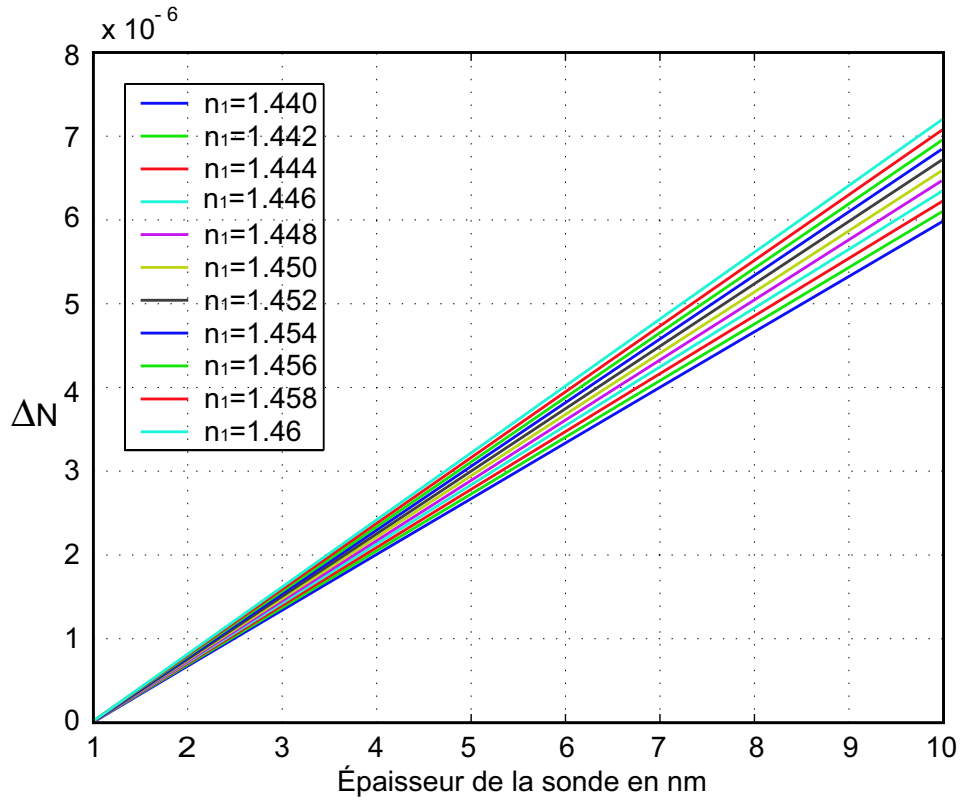


FIG. 2.15 – Représentation des variations de ΔN en fonction des variations d'épaisseur Δd_1 et d'indice Δn_1 de la sonde pour le mode **TE**.

a) ΔN en fonction de Δd_1 pour différents indices optiques n_1 .



b) ΔN en fonction de Δn_1 pour différentes épaisseurs d_1 .

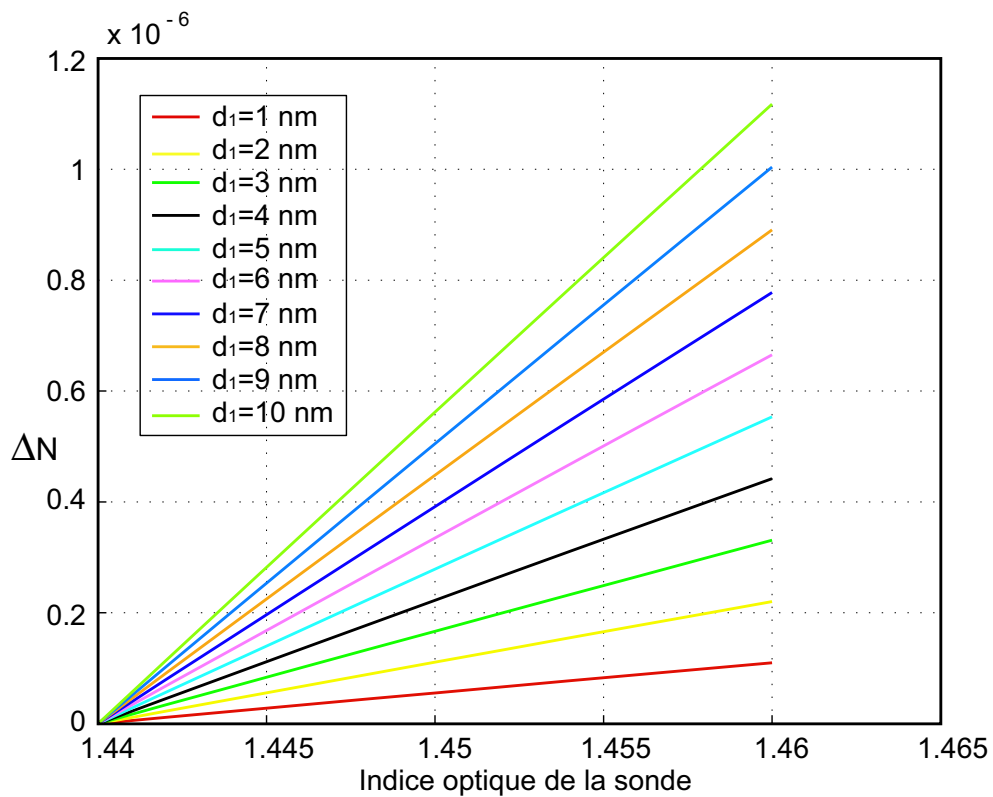


FIG. 2.16 – Représentation des variations de ΔN en fonction des variations d'épaisseur Δd_1 et d'indice Δn_1 de la sonde pour le mode **TM**.

L'idée développée dans cette étude est de déterminer le paramètre ou les paramètres (Δn_1 ou Δd_1) qui influent le plus sur la variation ΔN de l'indice effectif de l'onde guidée.

Nous pouvons d'ores et déjà observer (figures 2.15 et 2.16) que le mode TM est légèrement plus sensible aux différentes variations dans la sonde que le mode TE. En faisant le parallèle avec notre biocapteur, nous attendons donc une sensibilité légèrement plus importante pour une étude sur ce mode TM.

D'autre part, comme nous l'avons dit précédemment, lors des interactions biomoléculaires dans la sonde, la variation d'indice Δn_1 est de l'ordre de 10^{-3} et la variation d'épaisseur est quant à elle de l'ordre d'une dizaine de nanomètres. Dans ces conditions et à partir des figures 2.15 et 2.16, nous pouvons déduire deux informations importantes :

- pour le cas a), c'est-à-dire pour un indice de biocouche fixé, on observe une variation $\Delta N \sim 7.10^{-6}$ pour un $\Delta d_1 = 9 \text{ nm}$;
- pour le cas b), c'est-à-dire pour une épaisseur de biocouche fixée, on observe une variation $\Delta N \sim 1.10^{-8}$ pour un $\Delta n_1 = 10^{-3}$.

Ces ordres de grandeurs sont identiques pour les deux modes de polarisation. Nous observons donc une influence plus importante (environ 700 fois plus grande) des variations d'épaisseur dans la sonde sur la variation d'indice effectif de l'onde guidée.

Dans ces conditions, notre biocapteur sera beaucoup plus sensible à une variation d'épaisseur dans la sonde lors des interactions biomoléculaires.

Suite à cette étude, il nous a semblé intéressant d'étudier l'influence de la longueur d'onde de travail sur la sensibilité du biocapteur. C'est-à-dire la variation ΔN de l'indice effectif de l'onde guidée en fonction des variations d'épaisseur Δd_1 et d'indice Δn_1 de la sonde pour différentes longueurs d'onde de travail.

Pour chaque longueur d'onde de travail l'épaisseur du guide plan est recalculée afin de conserver le caractère monomode de ce dernier. De plus nous nous plaçons dans les mêmes conditions que précédemment, à savoir :

- $n_0=1,33$: indice du milieu extérieur (eau) ;
- $n_2=1,4675$: indice du cœur ;
- $n_3=1,4617$: indice de la gaine optique ;

L'étude est effectuée pour les deux modes TE et TM, avec dans chacun des cas une étude

de la variation de ΔN en fonction uniquement de la variation d'épaisseur Δd_1 et une seconde étude de la variation ΔN en fonction uniquement de la variation d'indice de la sonde Δn_1 .

Le phénomène observé étant le même pour les quatre cas étudiés, nous ne représenterons sur la figure 2.17 que l'étude effectuée sur le mode TE dans laquelle nous observons la variation ΔN en fonction de la variation d'épaisseur Δd_1 pour un indice de sonde $n_1=1,446$.

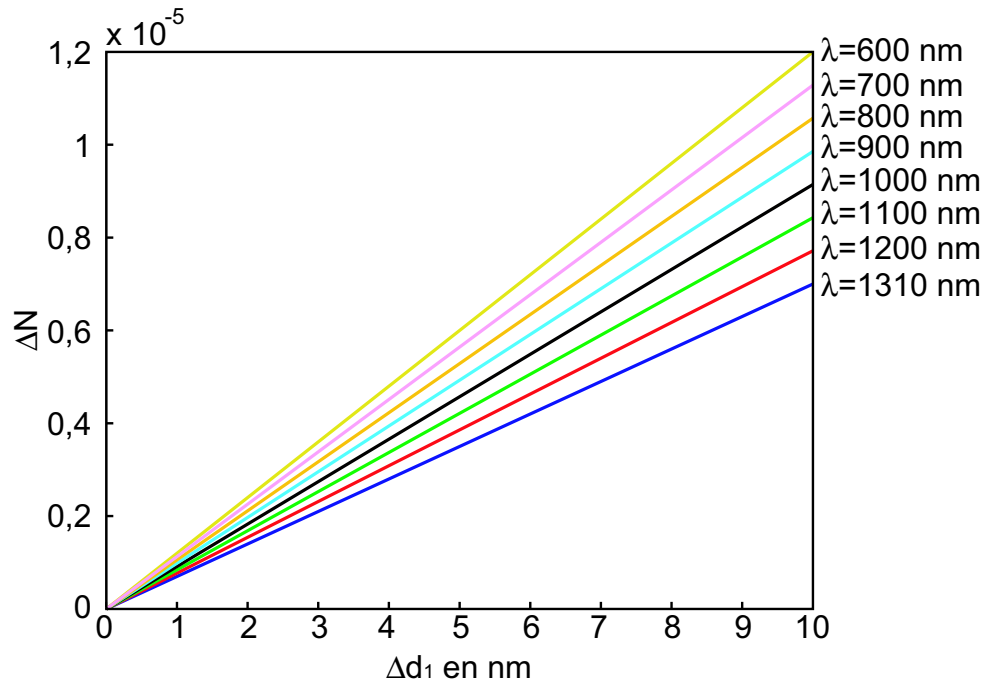


FIG. 2.17 – Représentation des variations de ΔN en fonction des variations d'épaisseur Δd_1 pour différentes longueurs d'onde de travail, mode **TE**.

Nous observons une influence relativement importante de la longueur d'onde sur la sensibilité du biocapteur. En effet, pour les deux cas extrêmes ($\lambda=600$ nm et $\lambda=1310$ nm) la sensibilité du biocapteur varie du simple au double. Cette dernière est donc directement liée à la longueur d'onde de travail.

En conclusion, si nous souhaitons augmenter la sensibilité de notre système, l'idéal est de travailler à de très faible longueur d'onde, tout en conservant le caractère monomode de notre système. Ce qui implique de bien choisir les fibres utilisées.

Après avoir étudié l'influence des variations (Δd_1 et Δn_1) de la sonde au cours des réactions biomoléculaires sur la variation ΔN de l'indice effectif de l'onde guidée, ainsi que l'influence de la longueur d'onde de travail sur la sensibilité du biocapteur, nous allons maintenant nous intéresser à l'influence de la profondeur d'ouverture de notre fenêtre active sur ΔN .

2.5.3 Détermination théorique de la profondeur d'ouverture de la fenêtre d'analyse

Comme nous l'avons vu dans la partie 1.3.2.2, un guide d'ondes est d'autant plus sensible que son épaisseur est faible.

Dans cette partie du mémoire, nous cherchons à déterminer si ce type de considération s'applique à l'architecture bien particulière de notre biocapteur. Pour ce faire, nous observerons alors l'influence de la profondeur d'ouverture de la fenêtre d'analyse sur la variation ΔN de l'indice effectif du mode guidé.

Dans un premier temps et comme précédemment, nous étudierons le cas relativement plus simple d'un guide plan à 4 couches (figure 2.14). Nous déterminerons de cette façon l'influence de l'épaisseur du guide d_2 sur la variation ΔN .

Dans un second temps, nous nous attacherons à déterminer l'influence de la profondeur d'ouverture de la fenêtre d'analyse du biocapteur fibré, c'est-à-dire la taille du cœur de la fibre après usinage, sur la variation ΔN .

2.5.3.1 Cas d'un guide plan : influence de l'épaisseur du guide

Le fait de travailler sur un système plan doit nous permettre de mieux comprendre le fonctionnement relatif à une structure plus complexe et plus particulièrement celle de notre biocapteur.

La structure plane à quatre couches retenue présente des caractéristiques similaires à celle de notre biocapteur.

Afin de déterminer l'influence de d_2 sur ΔN , nous utiliserons les équations 2.26 et 2.34 relatives aux deux modes de polarisation.

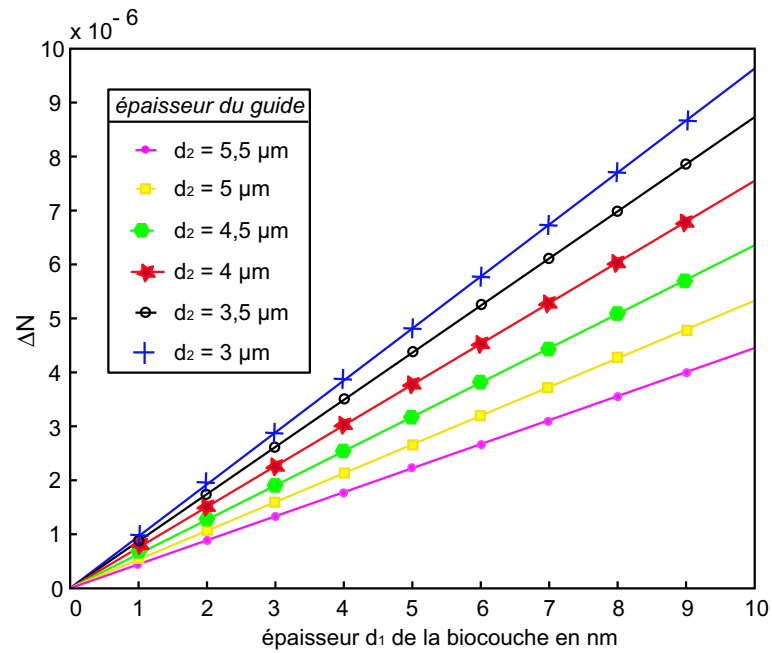
On fixe :

- λ : longueur d'onde de travail égale à $1,31 \mu m$;
- n_0 : indice de réfraction du milieu extérieur égal à 1,33 ;
- n_1 : indice de réfraction du milieu couvrant (sonde) égal à 1,446 ;
- n_2 : indice de réfraction du guide égal à 1,4675 ;
- n_3 : indice de réfraction de la gaine optique égale 1,4617 ;
- d_1 : épaisseur de la couche bioréceptrice, $d_1 \in [1; 10] nm$.

Nous allons donc étudier la variation ΔN en fonction de d_1 pour différentes épaisseurs successives d_2 du guide. Pour ces différentes épaisseurs d_2 , le guide plan est conservé monomode

à la longueur d'onde de travail.

a.) Mode TE.



b.) Mode TM.

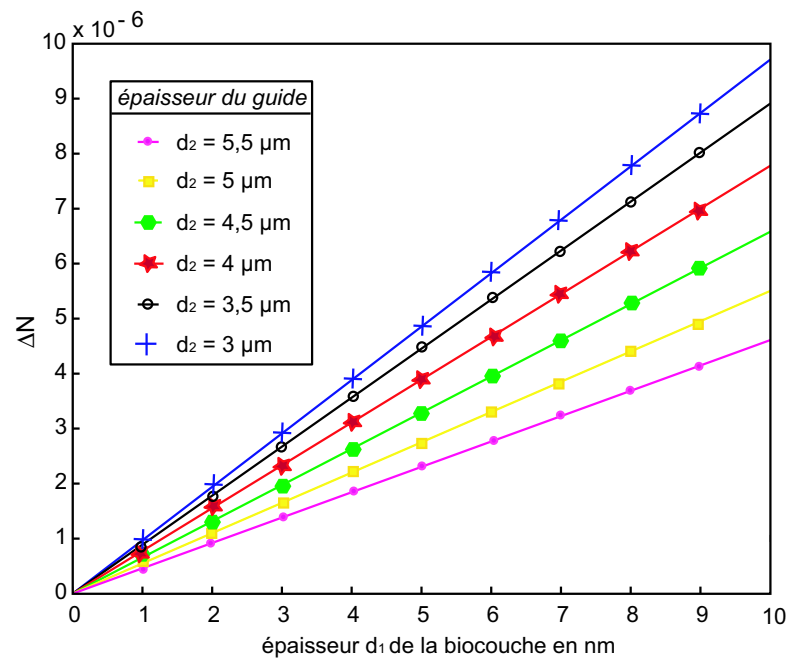


FIG. 2.18 – Représentation des variations de ΔN en fonction des variations d'épaisseur Δd_1 pour différentes épaisseurs de guide.

Nous observons sur la figure 2.18 que la sensibilité du système plan croît proportionnellement avec la diminution de la taille du guide. Cette constante augmentation de la sensibilité n'est pas négligeable. En effet, pour les deux cas extrêmes ($d_2 = 3 \mu m$ et $d_2 = 5,5 \mu m$) la variation ΔN de l'indice effectif de l'onde guidée est environ multipliée par 2 pour une variation Δd_1 de la sonde égale à 10 nm. Nous retrouvons bien les considérations faites dans la partie (1.3.2.2) et dans l'article [38].

Cette étude succincte peut nous laisser penser que dans le cas de notre structure fibrée, la profondeur d'ouverture de la fenêtre d'analyse, et donc la taille du cœur de notre fibre, présente un comportement similaire au guide plan. C'est-à-dire une variation ΔN , et donc une sensibilité du biocapteur, qui croît avec la profondeur L (figure 2.13) d'ouverture de la fenêtre d'analyse (diminution du diamètre de cœur de la fibre et donc du guide).

Nous allons donc à présent étudier la variation de ΔN en fonction de Δd_1 pour différentes profondeurs L , avec une géométrie plus proche de la réalité.

2.5.3.2 Cas du biocapteur : influence de la profondeur d'ouverture de la fenêtre d'analyse

L'idée développée dans cette partie est d'obtenir une relation simple relative à l'architecture complexe de notre biocapteur de la forme :

$$N = N^0 + \Delta N \quad (2.38)$$

Avec :

- N^0 : indice effectif vu par l'onde guidée dans la fibre après ouverture de la fenêtre active et avant la fonctionnalisation de la surface ;
- ΔN : variation de l'indice effectif lors des interactions biomoléculaires.

La connaissance théorique de ΔN doit nous permettre d'étudier cette variation en fonction de Δd_1 pour différentes valeurs de L (profondeur d'ouverture).

Pour ce faire, nous utilisons la théorie des perturbations stationnaires [72]. Dans ce cas, l'étude d'un système physique se décompose en deux parties :

- nous commençons par dégager les effets principaux qui donnent au système sa physiologie générale. Dans notre cas c'est la détermination de l'expression de l'indice effectif N^0 en fonction de la profondeur d'ouverture de la fenêtre active ;
- puis nous essayons d'expliquer les détails plus "fins" en tenant compte des effets moins importants ; c'est dans le traitement de ces effets secondaires que l'on se sert couramment de la théorie de perturbation. Pour notre biocapteur ces effets secondaires sont liés

aux interactions biomoléculaires. Nous cherchons donc l'expression de ΔN en fonction des différents paramètres qui évoluent dans la sonde au cours des réactions d'intérêt.

• **Application de la théorie des perturbations stationnaires à notre système.**

La structure étudiée est la suivante :

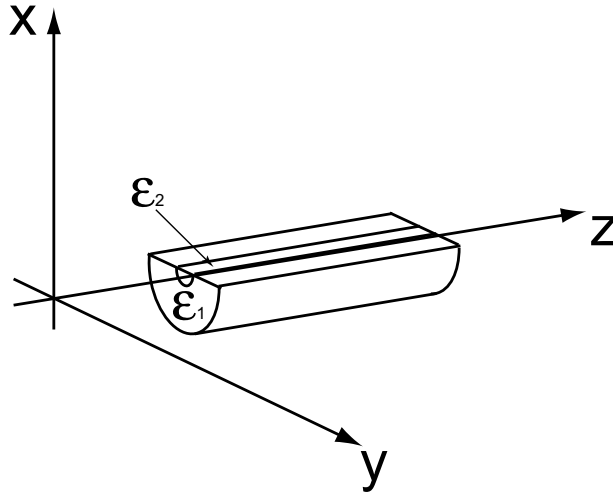


FIG. 2.19 – Géométrie de la fibre optique usinée étudiée. z est l'axe de propagation et $\varepsilon = \varepsilon(x, y)$.

Nous cherchons alors l'équation de propagation des champs optiques dans cette structure.

Soit tout d'abord les quatre équations de Maxwell relatives à notre système :

$$\text{rot} \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad (2.39a)$$

$$\text{div} \vec{B} = 0 \quad (2.39b)$$

$$\text{rot} \vec{H} = \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \quad (2.39c)$$

$$\text{div} \vec{D} = 0, \quad (2.39d)$$

où \vec{E} et \vec{B} sont respectivement le champ électrique et magnétique, \vec{H} et \vec{D} sont respectivement le vecteur induction magnétique et le vecteur déplacement électrique. Ces derniers dénotent la réponse du matériau considéré à une excitation électromagnétique. Ces vecteurs sont dépendants du temps t .

Les couples (\vec{E}, \vec{B}) et (\vec{D}, \vec{H}) sont reliés par les relations constitutives suivantes :

$$\vec{D} = \varepsilon \cdot \varepsilon_0 \cdot \vec{E} \quad (2.40a)$$

$$\vec{H} = \frac{\vec{B}}{\mu_0} \quad (2.40b)$$

Pour plus de commodité, nous travaillerons sur l'induction \vec{H} car ces composantes sont continues aux interfaces de notre système contrairement à celles du champ \vec{E} .

L'équation de propagation du champ \vec{H} dans une structure s'écrit :

$$\Delta \vec{H} - \frac{\varepsilon}{c^2} \frac{\partial^2 \vec{H}}{\partial t^2} + \vec{grad}(\eta) \wedge r \vec{ot} \vec{H} = 0 \quad (2.41)$$

Où : $\eta = \ln \varepsilon$.

Dans notre cas l'induction magnétique \vec{H} s'écrit sous la forme suivante :

$$\vec{H} = \vec{H}(x, y) \cdot e^{i(wt - \beta z)} \quad (2.42)$$

et : $\eta = \eta(x, y)$.

d'où :

$$\begin{cases} \frac{\partial^2 \vec{H}}{\partial t^2} = -w^2 \cdot \vec{H} \\ \Delta \vec{H} = \Delta_{\perp} \vec{H} - \beta^2 \cdot \vec{H} \end{cases} \quad (2.43)$$

et :

$$\vec{grad}(\eta) \wedge r \vec{ot} \vec{H} = \begin{pmatrix} \frac{\partial \eta}{\partial y} \cdot \left[\frac{\partial H_y}{\partial x} - \frac{\partial H_x}{\partial y} \right] \\ -\frac{\partial \eta}{\partial x} \cdot \left[\frac{\partial H_y}{\partial x} - \frac{\partial H_x}{\partial y} \right] \\ \frac{\partial \eta}{\partial x} \cdot \left[i \cdot \beta H_x - \frac{\partial H_z}{\partial x} \right] - \frac{\partial \eta}{\partial y} \cdot \left[i \cdot \beta H_x - \frac{\partial H_z}{\partial x} \right] \end{pmatrix} \quad (2.44)$$

En injectant les équations 2.43 et 2.44 dans l'équation 2.41 et en projetant sur les axes \vec{x} et \vec{y} , nous obtenons le système d'équations suivant :

$$\begin{cases} \Delta_{\perp} H_x + \frac{w^2}{c^2} \cdot \varepsilon(x, y) \cdot H_x + \frac{\partial \eta}{\partial y} \left(\frac{\partial H_y}{\partial x} - \frac{\partial H_x}{\partial y} \right) = \beta^2 \cdot H_x \\ \Delta_{\perp} H_y + \frac{w^2}{c^2} \cdot \varepsilon(x, y) \cdot H_y - \frac{\partial \eta}{\partial x} \left(\frac{\partial H_y}{\partial x} - \frac{\partial H_x}{\partial y} \right) = \beta^2 \cdot H_y \end{cases} \quad (2.45)$$

Le système obtenu peut se mettre sous la forme matricielle suivante :

$$A^o |H^o\rangle = (\beta^o)^2 |H^o\rangle \quad (2.46)$$

Où : A^o représente l'opérateur de propagation non perturbé relatif à notre système.

$$A^o = \begin{pmatrix} \Delta_{\perp} + \frac{w^2}{c^2} \cdot \varepsilon^o(x, y) - \frac{\partial \eta^o}{\partial y} \frac{\partial}{\partial y} & \frac{\partial \eta^o}{\partial y} \frac{\partial}{\partial x} \\ \frac{\partial \eta^o}{\partial x} \frac{\partial}{\partial y} & \Delta_{\perp} + \frac{w^2}{c^2} \cdot \varepsilon^o(x, y) - \frac{\partial \eta^o}{\partial x} \frac{\partial}{\partial x} \end{pmatrix} \quad (2.47)$$

et : $|H^o\rangle$ représente les états propres non perturbés correspondant à notre système.

$$|H^o\rangle = \begin{bmatrix} H_x^o \\ H_y^o \end{bmatrix} \quad (2.48)$$

Remarque : l'exposant o indique l'état non perturbé du système.

Nous venons donc d'effectuer la première partie du travail qui consiste à donner au système sa physionomie générale. La connaissance de β^o nous donne directement accès à l'indice effectif N^o vu par l'onde guidée avant perturbation, puisque $\beta^o = 2\pi N^o / \lambda$.

Nous pouvons alors poursuivre cette étude par un calcul perturbatif pour prendre en compte les variations minimales de la structure induites par les interactions biomoléculaires dans la sonde.

Au cours des interactions biomoléculaires les paramètres de la sonde sont amenés à évoluer. La structure du guide change et nous pouvons alors écrire :

$$\varepsilon = \varepsilon^o + \delta\varepsilon \quad (2.49)$$

où : $\delta\varepsilon = \Lambda \Delta\varepsilon$ avec $\Lambda \ll 1$ et où $\Delta\varepsilon$ est une grandeur du même ordre de grandeur que ε^o ; Λ paramètre réel sans dimension qui caractérise l'intensité de la perturbation.

L'opérateur de propagation perturbé A s'écrit alors :

$$A = A^o + A^1 \quad (2.50)$$

Où : A^1 représente la perturbation.

Nous pouvons donc écrire l'équation générale du système perturbé :

$$A|H\rangle = \beta^2|H\rangle \quad (2.51)$$

Nous cherchons alors les états propres $|H\rangle$ et les valeurs propres β^2 de l'opérateur hermitique A (ce qui impose que ε soit réel, c'est-à-dire qu'il n'y a pas d'absorption dans le guide).

Après plusieurs étapes purement calculatoires [72], nous arrivons au résultat final d'intérêt.

Dans le cas d'un niveau $(\beta^o)^2$ non dégénéré, ce qui est notre cas (il l'est car la dégénérescence naturelle d'une fibre cylindrique est levée par l'ouverture pratiquée), la valeur propre β^2 de A qui correspond à $(\beta^o)^2$ s'écrit donc, au premier ordre par rapport à la perturbation A^1 :

$$\beta^2 = \underbrace{(\beta^o)^2}_{\text{terme 1}} + \underbrace{\langle H_x | A^1 | H_y \rangle}_{\text{terme 2}} \quad (2.52)$$

Comme nous l'avons vu précédemment, le terme 1 de l'équation 2.52 nous donne accès à N^o , à une constante près, indice effectif vu par l'onde guidée dans le biocapteur.

Le second terme de l'équation est directement lié aux perturbations et c'est cette partie de l'équation que nous traitons afin de déterminer les variations d'indice effectif ΔN vues par l'onde guidée au cours des interactions biomoléculaires. Cette étude nous donnera alors accès à la sensibilité de notre biocapteur en fonction des différents paramètres évoluant dans la sonde, pour différentes profondeurs d'ouverture de la fenêtre active.

Suite à l'équation 2.49, nous pouvons écrire que : $\eta = \eta^o + \delta\eta$. Nous obtenons alors l'expression de A^1 :

$$A^1 = \begin{pmatrix} \frac{w^2}{c^2} \cdot \delta\varepsilon - \frac{\partial\delta\eta}{\partial y} \cdot \frac{\partial}{\partial y} & \frac{\partial\delta\eta}{\partial y} \cdot \frac{\partial}{\partial x} \\ \frac{\partial\delta\eta}{\partial x} \cdot \frac{\partial}{\partial y} & \frac{w^2}{c^2} \cdot \delta\varepsilon - \frac{\partial\delta\eta}{\partial x} \cdot \frac{\partial}{\partial x} \end{pmatrix} \quad (2.53)$$

Nous pouvons donc écrire l'expression générale du second terme de l'équation 2.52 :

$$\begin{aligned} \langle H_x | A^1 | H_y \rangle = \int \int_C dx dy & \left[\frac{w^2}{c^2} \cdot \delta\varepsilon (|H_x|^2 + |H_y|^2) + H_x^* \left(\frac{\partial H_y}{\partial x} - \frac{\partial H_x}{\partial y} \right) \cdot \frac{\partial\delta\eta}{\partial y} \right. \\ & \left. + H_y^* \left(\frac{\partial H_x}{\partial y} - \frac{\partial H_y}{\partial x} \right) \cdot \frac{\partial\delta\eta}{\partial x} \right] \end{aligned} \quad (2.54)$$

Où : H_x^* et H_y^* représentent les composantes des champs complexes conjugués non perturbés.

Afin de simplifier au maximum l'équation 2.54, nous tenons compte des conditions limites des champs dans le système étudié (figure 2.20).

Celles-ci sont telles que sur les bords [AB] et [CD] de la couche perturbante, les composantes H_x et H_y ainsi que leurs dérivées suivant x et y peuvent être considérées comme nulles (la couche perturbante a une étendue très grande devant les dimensions du mode guidé).

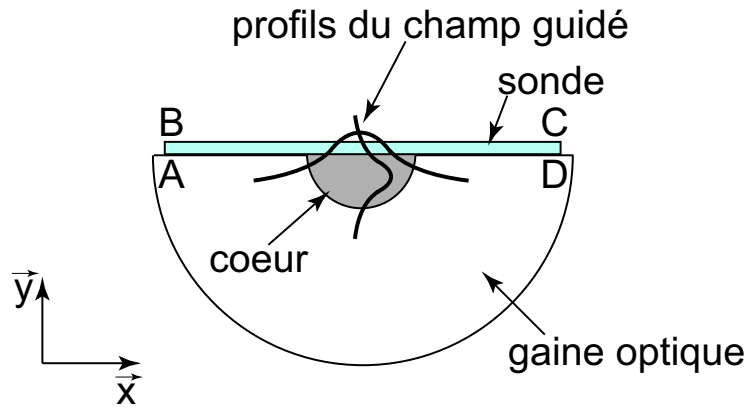


FIG. 2.20 – Coupe transverse du biocapteur.

Mathématiquement la couche se modélise facilement sous la forme :

$$\delta\varepsilon(x, y) = \delta\varepsilon \cdot [\theta(x - a) - \theta(x - d)] \cdot [\theta(y - a) - \theta(y - b)] \quad (2.55)$$

$$\delta\eta(x, y) = \delta\eta \cdot [\theta(x - a) - \theta(x - d)] \cdot [\theta(y - a) - \theta(y - b)] \quad (2.56)$$

où : $\theta(x)$ est la fonction de Heaviside classique.

Suite aux équations 2.55 et 2.56, nous développons les expressions suivantes :

$$\frac{\partial\eta(x, y)}{\partial x} = \ln\left(1 + \frac{\delta\varepsilon}{\varepsilon}\right) \cdot [\delta(x - a) - \delta(x - d)] \cdot [\theta(y - a) - \theta(y - b)] \quad (2.57)$$

$$\frac{\partial\eta(x, y)}{\partial y} = \ln\left(1 + \frac{\delta\varepsilon}{\varepsilon}\right) \cdot [\theta(x - a) - \theta(x - d)] \cdot [\delta(y - a) - \delta(y - b)] \quad (2.58)$$

En injectant les équations 2.57 et 2.58 dans l'équation 2.54, nous obtenons l'expression simplifiée de la perturbation de notre système :

$$\begin{aligned} \langle H_y | A^1 | H_y \rangle &= \frac{w^2}{c^2} \cdot \delta\varepsilon \cdot \int_a^d \int_a^b dx dy (|H_x|^2 + |H_y|^2) + \ln\left(1 + \frac{\delta\varepsilon}{\varepsilon}\right) \cdot \int_a^d dx \\ &\quad (H_x^*(x, a) \cdot [\frac{\partial H_y(x, a)}{\partial x} - \frac{\partial H_x(x, a)}{\partial y}] - H_x^*(x, d) \cdot [\frac{\partial H_y(x, d)}{\partial x} - \frac{\partial H_x(x, d)}{\partial y}]) \end{aligned} \quad (2.59)$$

où les champs sont normalisés, c'est-à-dire où :

$$\langle \frac{H_x}{H_y} | \frac{H_x}{H_y} \rangle = \int \int_{-\infty}^{+\infty} dx dy (|H_x|^2 + |H_y|^2) = 1 \quad (2.60)$$

C'est à partir de l'équation 2.59, que nous pouvons entreprendre l'étude de la sensibilité théorique de notre biocapteur.

• Exploitation des résultats théoriques.

L'étude menée, nous donne un accès direct à l'équation suivante :

$$\beta^2 = (\beta^o)^2 + \Delta\beta^2 \quad (2.61)$$

avec : $\Delta\beta^2 = \langle \frac{H_x}{H_y} | A^1 | \frac{H_x}{H_y} \rangle$.

De plus :

$$\beta^o = \frac{2.\pi.N^o}{\lambda} \quad \text{et} \quad \Delta\beta^2 = \frac{8.\pi^2.N^o.\Delta N}{\lambda^2} = \Delta\left(\frac{4.\pi^2.N^2}{\lambda^2}\right) \quad (2.62)$$

L'équation 2.61 prend alors la forme suivante :

$$N^2 = (N^o)^2 + 2.N^o.\Delta N \quad (2.63)$$

avec :

- N : indice effectif vu par l'onde guidée ;
- N^o : indice effectif vu par l'onde guidée avant les interactions biomoléculaires (perturbations) ;
- ΔN : variation de l'indice effectif au cours des perturbations.

En jouant sur la couche perturbatrice et à partir de l'équation 2.63, nous pouvons donc étudier la sensibilité théorique de notre biocapteur. Cette étude théorique se décompose en deux parties : nous déterminerons tout d'abord la variation de l'indice effectif N^o vu par l'onde guidée avant perturbation pour différentes profondeurs d'ouverture L (cf. figure 2.13) de la fenêtre active. La seconde partie sera consacrée à l'étude des variations d'indice effectif ΔN dues aux

interactions biomoléculaires. Elle portera sur l'évolution de ΔN en fonction de la variation d'épaisseur de la sonde Δd_1 pour différentes valeurs de L .

La première partie de ce travail est réalisée à l'aide du logiciel Femlab[®]. Femlab permet de résoudre numériquement des systèmes linéaires et non-linéaires couplés d'équations aux dérivées partielles. Il utilise la méthode des éléments finis et réalise un maillage automatique de la géométrie étudiée à l'aide de triangles ou de tétraèdres.

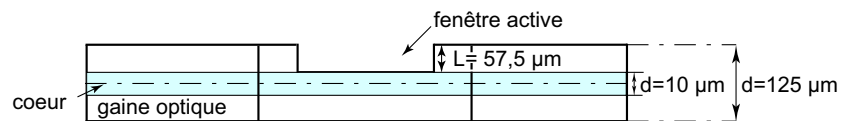
Les paramètres opto-géométriques utilisés pour nos simulations sont les suivants :

- longueur d'onde de travail égal à $1,31 \mu m$;
- diamètre extérieur de la fibre SMF 28 égal à $125 \mu m$;
- diamètre de cœur égal à $10 \mu m$;
- indice de cœur égal à 1,4675 ;
- indice de gaine égal à 1,4617.

Ce traitement théorique effectué sous Femlab, nous donne accès à plusieurs paramètres importants de notre système non perturbé.

L'étude est effectuée pour six profondeurs d'ouverture L (figure 2.22). Nous débutons par une profondeur d'ouverture $L = 57,5 \mu m$, soit une ouverture affleurant le cœur de la fibre optique, pour terminer cette étude par une profondeur d'ouverture $L = 62,5 \mu m$. Dans ce dernier cas, l'ouverture de la fenêtre active est alors effectuée jusqu'au centre du cœur de la fibre (figure 2.21).

a.) Premier cas limite: ouverture de la fenêtre active à fleur du coeur de la fibre



b.) Second cas limite: ouverture de la fenêtre active jusqu'au centre du coeur de la fibre

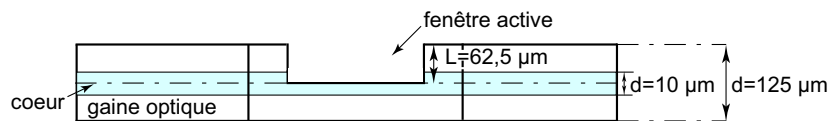


FIG. 2.21 – Ouverture de la fenêtre active pour les deux valeurs limites de L .

- milieu ① : eau d'indice de réfraction 1,33
- milieu ② : gaine optique de la fibre d'indice 1,4617
- milieu ③ : coeur de la fibre d'indice 1,4675

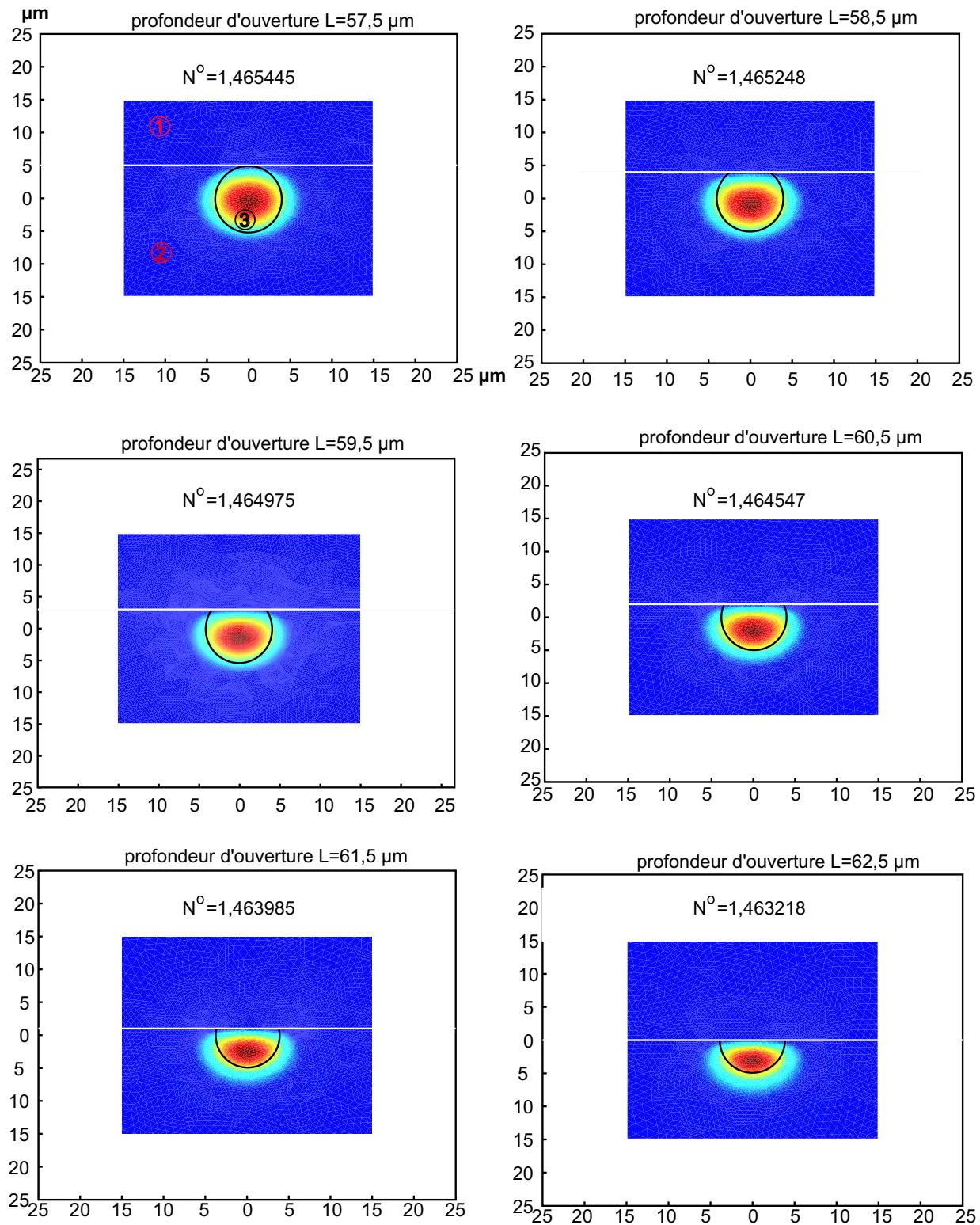
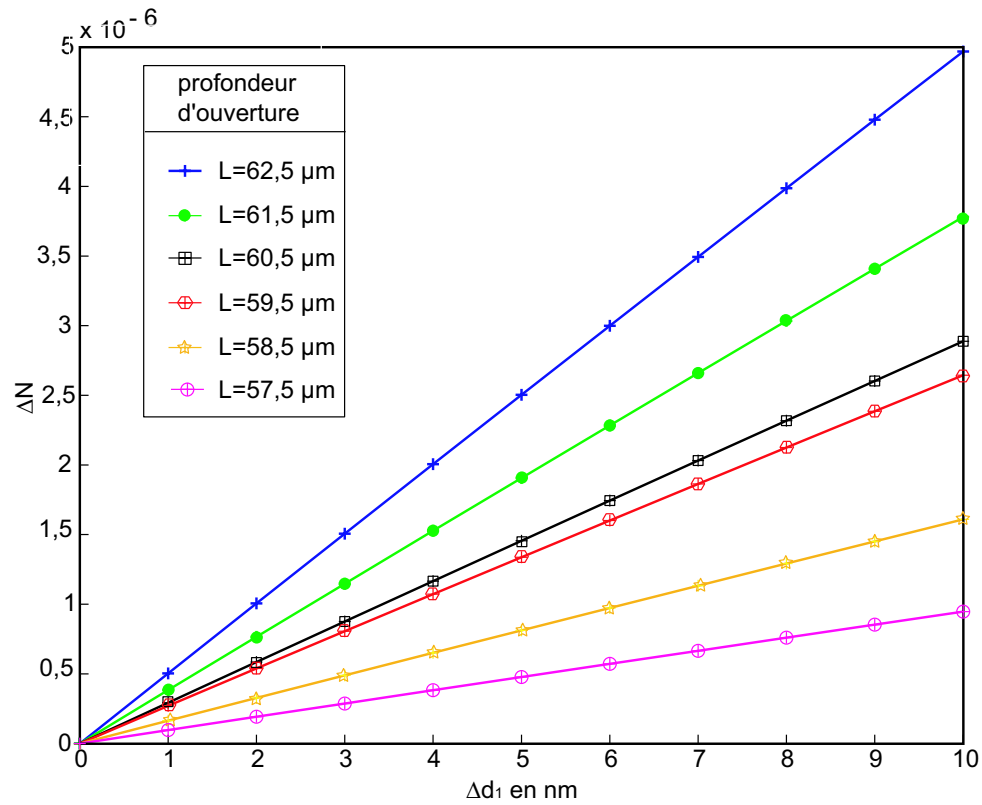
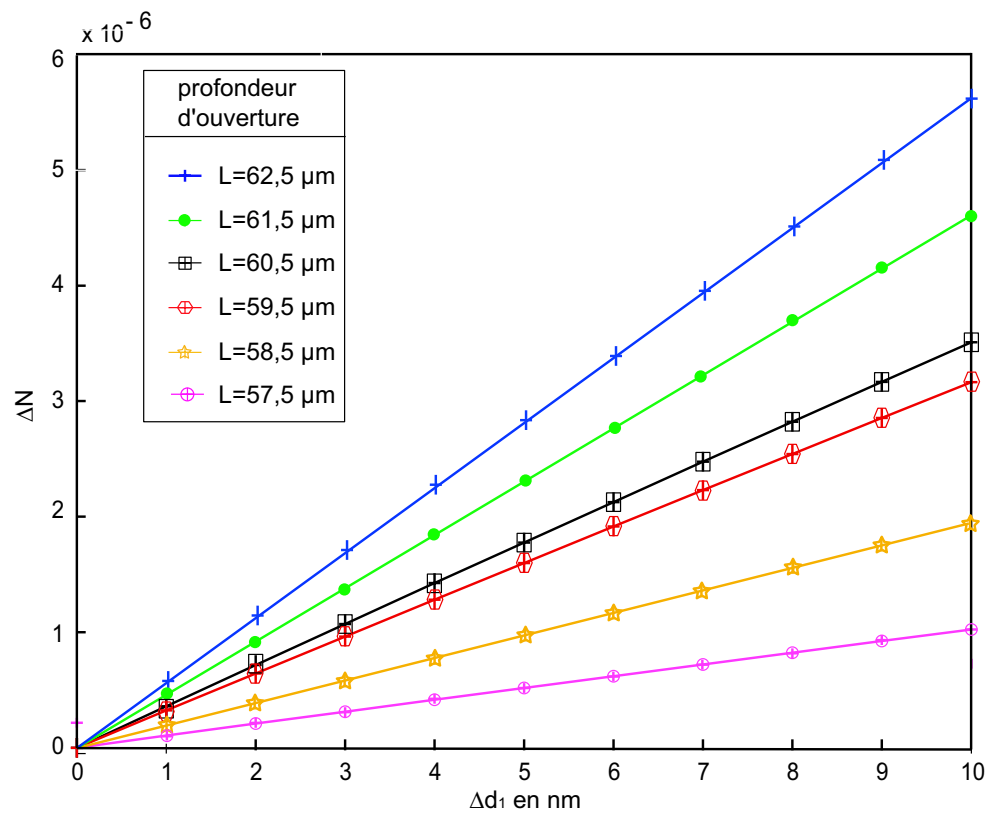


FIG. 2.22 – Evolution du champ guidé \vec{H} (mode TE) en fonction de la profondeur d'ouverture d'une fibre SMF 28.

a.) Mode TE.



b.) Mode TM.

FIG. 2.23 – Sensibilité du biocapteur pour différentes valeurs de L .

Pour ces deux conditions limites et pour les valeurs $L \in [57,5 \mu m; 62,5 \mu m]$, nous observons (figure 2.22) que notre système reste monomode, avec un champ guidé qui est en grande partie confiné dans le cœur de la fibre.

Pour chacun des cas étudiés, les différentes valeurs de l'indice effectif $N^o(L)$ vu par l'onde guidée ainsi que les composantes du vecteur induction magnétique ($H_x(L), H_y(L)$) sont déterminées et stockées. Ce qui nous permet alors de passer à la seconde étape de cette étude théorique.

Suite à l'étude du système non perturbé, il est alors possible de déterminer la variation d'indice effectif $\Delta N(L)$ en fonction de la variation d'épaisseur Δd_1 de la sonde, et donc de connaître la sensibilité théorique de notre biocapteur au cours des réactions d'interactions biomoléculaires pour différentes profondeurs d'ouverture L de la fenêtre active.

L'étude du système perturbé se fait alors en combinant l'équation 2.59 avec les différentes valeurs ($N^o(L), H_x(L), H_y(L)$) collectées précédemment.

Les résultats observés sur la figure 2.23 sont similaires à ceux étudiés dans le cas d'un guide plan (cf. 2.3.3.1). La sensibilité de notre système fibré croît proportionnellement avec la profondeur d'ouverture de la fenêtre active et donc avec une diminution du cœur de la fibre dans la zone sensible (lieu des interactions biomoléculaires). Cette variation linéaire de la sensibilité du capteur semble être prise en défaut pour une ouverture de fenêtre $L=59,5 \mu m$. Ce phénomène curieux n'est pas lié à une propriété particulière du biocapteur mais à un problème de calcul numérique sous Femlab. En effet, les simulations que nous avons réalisées nécessitaient un maillage très fin et occupaient donc un volume mémoire important. Cet écart de calcul montre simplement les limites des codes informatiques actuels. Nous l'avons tout de même laissé dans notre présentation afin de souligner les précautions qu'il faut prendre lorsqu'on analyse ce type de résultats théoriques.

Néanmoins, nous remarquons que pour les deux valeurs limites de L , la variation de ΔN et donc la sensibilité de notre biocapteur est multipliée par 10. Ce facteur n'étant pas négligeable, nous nous apercevons donc du caractère primordial du paramètre L lors de la réalisation du biocapteur.

Enfin, pour un indice de sonde $n_1 = 1,446$ et une longueur d'onde $\lambda = 1,31 \mu m$, la variation d'indice effectif de l'onde guidée est de l'ordre de 10^{-6} pour une variation d'épaisseur de sonde $d_1 = 10 nm$, avec $L \in [57,5 \mu m; 62,5 \mu m]$. Cette sensibilité théorique est du même ordre de grandeur que celle des biocapteurs fibrés existants et présentés dans le premier chapitre.

Au cours de cette partie, nous avons étudié la zone "active" du transducteur. Le premier

point développé traite de l'influence des différents paramètres de la sonde et plus particulièrement de l'influence des variations d'épaisseur Δd_1 et d'indice Δn_1 de cette biocouche sur le comportement du biocapteur. Au final, nous avons conclu que les informations collectées sur la variation d'indice effectif ΔN lors des mesures seront essentiellement dues à une variation d'épaisseur de la couche bioréceptrice.

La seconde partie de l'analyse portait sur l'étude de la sensibilité du biocapteur en fonction de la profondeur d'ouverture de la fenêtre active.

Pour un indice de sonde $n_1 = 1,446$ et une longueur d'onde égale à $1,31 \mu m$; nous obtenons une résolution théorique $\Delta N \propto 10^{-6}$ pour une variation d'épaisseur de la sonde $\Delta d_1 = 10 nm$. La relation entre la variation d'indice effectif ΔN de l'onde guidée et la concentration de matière ayant réagi dans la sonde sera établie au chapitre 3.

Par ailleurs, nous avons noté que cette résolution théorique sur ΔN est d'autant plus importante que la profondeur d'usinage est grande, tout en conservant le caractère monomode du système.

Dans ces conditions et au vu des résultats théoriques, il est important pour la suite de nos travaux de réaliser, au sein de notre biocapteur, une fenêtre d'analyse dont la profondeur d'ouverture L est comprise entre $60,5 \mu m$ et $62,5 \mu m$, tout en conservant un niveau d'intensité lumineuse suffisante pour l'interrogation. Il faut cependant remarquer que théoriquement le mode guidé cesse d'exister dès que l'ouverture de la fenêtre dépasse les $62,5 \mu m$. Nous voyons ici apparaître une difficulté majeure de la réalisation de notre capteur puisque notre méthode d'ouverture de la fenêtre se devra d'être extrêmement précise.

2.6 Conclusion

Tout au long de ce second chapitre, nous nous sommes attachés d'une part à décrire et expliciter l'architecture de notre biocapteur et d'autre part à prévoir son comportement théorique.

Dans un premier temps, nous avons établi le cahier des charges auquel devait satisfaire notre biocapteur. Ce cahier des charges découle directement du chapitre 1 et des différentes demandes actuelles. Nous avons ensuite présenté la structure retenue ainsi que les phénomènes physiques mis en jeu dans notre biocapteur.

Après cette description générale du système et avant toute réalisation expérimentale, il nous a semblé judicieux d'étudier un à un et d'un point de vue purement théorique les trois éléments

composants notre système ainsi que leurs différentes interactions.

Nous avons donc tout d'abord étudié le système d'interrogation du biocapteur, système basé sur la modulation de cohérence. Les principales caractéristiques de la modulation de cohérence, appliquée à notre système, ont été estimées. Elles nous seront d'une grande utilité lors de l'étude expérimentale du biocapteur, et plus particulièrement lors de l'interrogation de ce dernier.

Dans un second temps, l'analyse s'est portée sur la zone passive du transducteur, c'est-à-dire l'étude de la cavité Fabry-Pérot. Nous avons tout d'abord rappelé le principe de fonctionnement de ce type d'interféromètre, puis nous avons déterminé de manière générale les principaux paramètres caractéristiques de celui-ci ainsi que l'influence de l'intégration d'une fenêtre d'analyse au sein de la cavité. Toutes ces caractéristiques seront relativement importantes au moment de fabriquer notre cavité intrinsèque.

Nous avons conclu ce travail par l'étude de la zone de transduction biologique-optique et plus particulièrement par la détermination des variations d'indices effectifs vues par l'onde guidée dans la fibre au cours des réactions biochimiques d'intérêt.

Le premier point développé traite de l'influence des différents paramètres de la sonde. Suite à cette étude, nous avons conclu que les informations collectées sur la variation d'indice effectif ΔN lors des mesures étaient directement dues à une variation d'épaisseur de la couche bioréceptrice.

La seconde partie de l'analyse porte sur l'étude de la sensibilité du biocapteur en fonction de la profondeur d'ouverture de la fenêtre active. Cette sensibilité théorique est du même ordre de grandeur que celle des biocapteurs fibrés existants et présentés dans le premier chapitre.

Ces principaux résultats théoriques restent à valider lors de mesures expérimentales.

Chapitre 3

Réalisation technologique

3.1 Introduction

Nous venons de présenter la structure générale de notre biocapteur ainsi qu'une description des différents éléments qui le composent. De cette étude découlent des contraintes quant à la réalisation de notre système, réalisation qui se fait en plusieurs étapes.

Les différents éléments composant le biocapteur (transducteur, sonde,...) sont élaborés et caractérisés indépendamment sur des fibres nues, validant ainsi les processus développés. C'est ce travail qui est présenté dans ce dernier chapitre.

La première étape de conception est la réalisation de la partie passive du système. Nous exposerons donc dans un premier temps les différentes étapes successives qui permettent de fabriquer la cavité Fabry-Pérot. Puis dans un second temps, nous nous intéresserons au processus développé pour ouvrir la zone active. Enfin, nous présenterons la méthode retenue pour fonctionnaliser cette fenêtre d'analyse.

3.2 Réalisation des miroirs en bout de fibre

3.2.1 Présentation

Nous avons vu que la méthode d'interrogation retenue impose des contraintes bien particulières sur la partie passive du biocapteur. En effet, la réflectivité des miroirs, qui composent la cavité Fabry-Pérot, doit être comprise entre 10% et 15%. De plus, cette réflectivité doit aussi rester constante sur toute la largeur spectrale de notre source (~ 40 nm pour la DSL émettant à 1,31 μm).

Afin de satisfaire à ces différentes contraintes, nous réalisons des miroirs en couche mince sur des extrémités de fibres. Ce choix impose dans un second temps, l'utilisation de la soudure pour finaliser notre interféromètre. Cette seconde étape étant traumatisante pour les miroirs, ces derniers doivent donc présenter différentes caractéristiques primordiales qui conditionneront la suite de nos travaux.

Les miroirs doivent avoir :

- une réflectivité avant soudure plus élevée ($\sim 30\%$), connue, contrôlée et reproductible ;
- une bonne résistance aux différentes manipulations qui suivront (soudure, clivage...).

Nous allons donc décrire dans cette première partie notre démarche pour satisfaire à ces différentes contraintes. Nous nous intéresserons tout d'abord à la méthode de fabrication des miroirs et aux limites inhérentes à cette dernière. Puis nous présenterons les solutions apportées pour s'affranchir de ces limites. Enfin nous justifierons le type de miroirs retenu pour réaliser notre sonde et nous détaillerons le procédé de fabrication.

3.2.2 Fabrication et contrôle des miroirs

3.2.2.1 Dépôt des miroirs

Le dépôt contrôlé de miroirs diélectriques (monocouche ou multicouche) ou métalliques revêt une importance considérable dans un grand nombre d'applications telles que les capteurs, les micro-systèmes, ou les dispositifs d'optique intégrée. Parmi les différentes techniques [73] utilisées pour déposer de tels miroirs, le dépôt sous vide par canon à électrons (*electron beam*) est une méthode souvent employée. Disposant d'une telle machine au laboratoire, c'est ce type de dépôt que nous utilisons pour réaliser les miroirs en extrémité de fibre.

Le dépôt par canon à électrons consiste en une évaporation de matière par chauffage. La source de chaleur est ici un faisceau d'électrons, généré par un filament de tungstène, défléchi par un électro-aimant vers le creuset contenant le matériau. Le faisceau d'électrons produit un échauffement local non continu (i.e. une succession d'évaporations flash), ce qui évite de détruire la stoechiométrie du matériau.

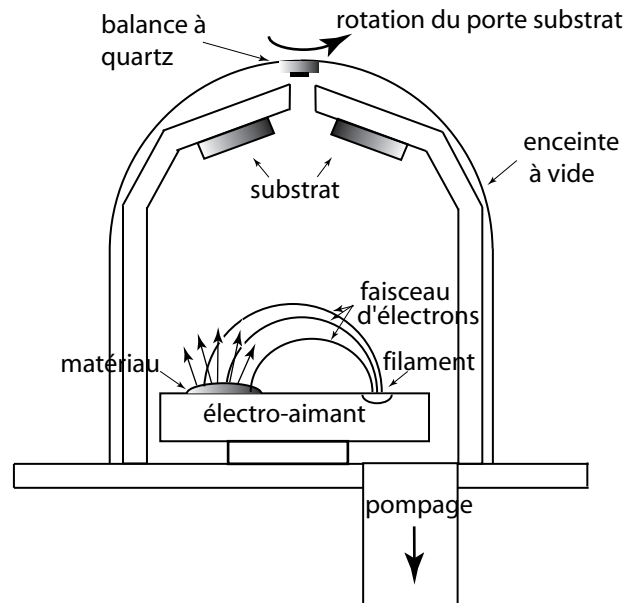


FIG. 3.1 – Bâti de dépôt par canon à électron

Toutefois, l'utilisation de cette technique de dépôt en vue de la réalisation de miroirs diélectriques performants reste souvent délicate, principalement en raison de la nécessité de calibrer préalablement les dépôts. De plus, la position des échantillons¹ dans la cloche à vide, l'environnement et le nombre d'échantillons sont autant de facteurs qui peuvent modifier l'épaisseur optique des couches déposées. En effet, le cristal utilisé pour la mesure de l'épaisseur des dépôts est généralement situé dans la partie supérieure de la cloche à vide. Les échantillons sont placés sur des supports positionnés entre le canon à électrons et le cristal de mesure. Nous comprenons alors que l'effet d'écran introduit par le porte échantillon, plus ou moins important suivant le nombre d'échantillons, perturbe les mesures effectuées par le cristal. D'autre part, les particules des différents matériaux mis en jeu, ne sont pas réparties de manière homogène dans la cloche à vide : ceci rend l'épaisseur des couches et leur homogénéité, et donc la réflectivité de nos miroirs, extrêmement sensible à la position des échantillons dans la cloche. Dans notre cas nous avons observé des variations de l'ordre de 10 % de l'épaisseur du film pour deux substrats distants de seulement 3 cm dans notre cloche à vide. La répartition non homogène des matériaux dans la cloche entraîne l'obtention de dépôts aux propriétés différentes (cf.figure 3.2).

¹échantillon : dans notre cas c'est un ensemble de fibres, fixées sur un canon, sur lesquelles on dépose les miroirs.

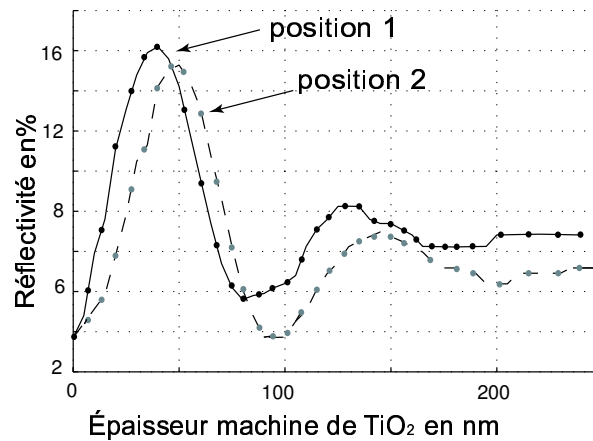


FIG. 3.2 – Réflectivité pour une monocouche de TiO_2 , courbes expérimentales pour deux positions dans la cloche.

Ces observations montrent toute l'importance d'une phase d'étalonnage, ainsi que la nécessité de disposer d'une technique efficace pour le contrôle de l'épaisseur des films et de leur réflectivité. Différentes méthodes *in situ* ont été proposées pour le contrôle des films. Citons par exemple des méthodes basées sur l'ellipsométrie [73], la réflectométrie massive [74], la spectroscopie laser Raman [75] ou la diffraction électronique [76]. Si elles offrent un contrôle efficace, ces méthodes sont généralement coûteuses ou difficiles à mettre en oeuvre pour des mesures *in situ* et encore plus dans un bâti qui n'était pas prévu pour les recevoir dès l'origine.

Nous avons donc développé une méthode simple de contrôle *in situ*. Elle nous donne accès à l'observation en temps réel de la réflectivité de la couche tout au long du dépôt, ainsi qu'aux paramètres réels caractérisant notre film. Il nous est dès lors possible de réaliser des miroirs en bout de fibre pour lesquels la réflectivité est connue et reproductible.

3.2.2.2 Méthode de contrôle : mesure en continu

L'originalité de notre méthode repose sur l'utilisation d'une fibre optique clivée, placée à proximité immédiate du substrat sur lequel le film est déposé. Une mesure directe de la lumière réfléchie par la fibre permet de contrôler efficacement le coefficient de réflexion, et de remonter aux différents paramètres intrinsèques du dépôt.

L'idée est donc de mesurer la quantité de lumière réfléchie par la couche tout au long du dépôt et de stopper le processus dès que la réflectivité désirée est atteinte.

Le système expérimental de contrôle est représenté en figure 3.3. Une diode super lumineuse (DSL, $\lambda=1,31\mu m$, $\Delta\lambda=40nm$) est connectée à une entrée d'un coupleur 2×2 . Un des

bras de ce coupleur est plongé dans un liquide adaptateur d'indice tandis que l'autre bras (fibre sonde) est introduit dans la cloche à vide, en contact étroit avec l'échantillon. La lumière réfléchie par cette fibre est alors collectée par un photo-détecteur. La DSL est modulée en intensité à une fréquence de 300 Hz (via le GBF). Le photo-détecteur est directement connecté à l'entrée du *lock-in*. Nous utilisons une détection synchrone afin d'augmenter au maximum la sensibilité de nos mesures et donc le rapport signal à bruit. L'information issue du *lock-in* est transférée à un ordinateur, via le port RS232. Nous observons ainsi l'évolution de la quantité de lumière réfléchie par l'extrémité de la fibre au cours du dépôt. Nous en déduisons alors la réflectivité des couches. Cette réflectivité mesurée en bout de fibre reflète en temps réel, à quelques pertes près, l'épaisseur du film déposé sur l'échantillon. Nous accédons ainsi à un contrôle *in situ* du dépôt.

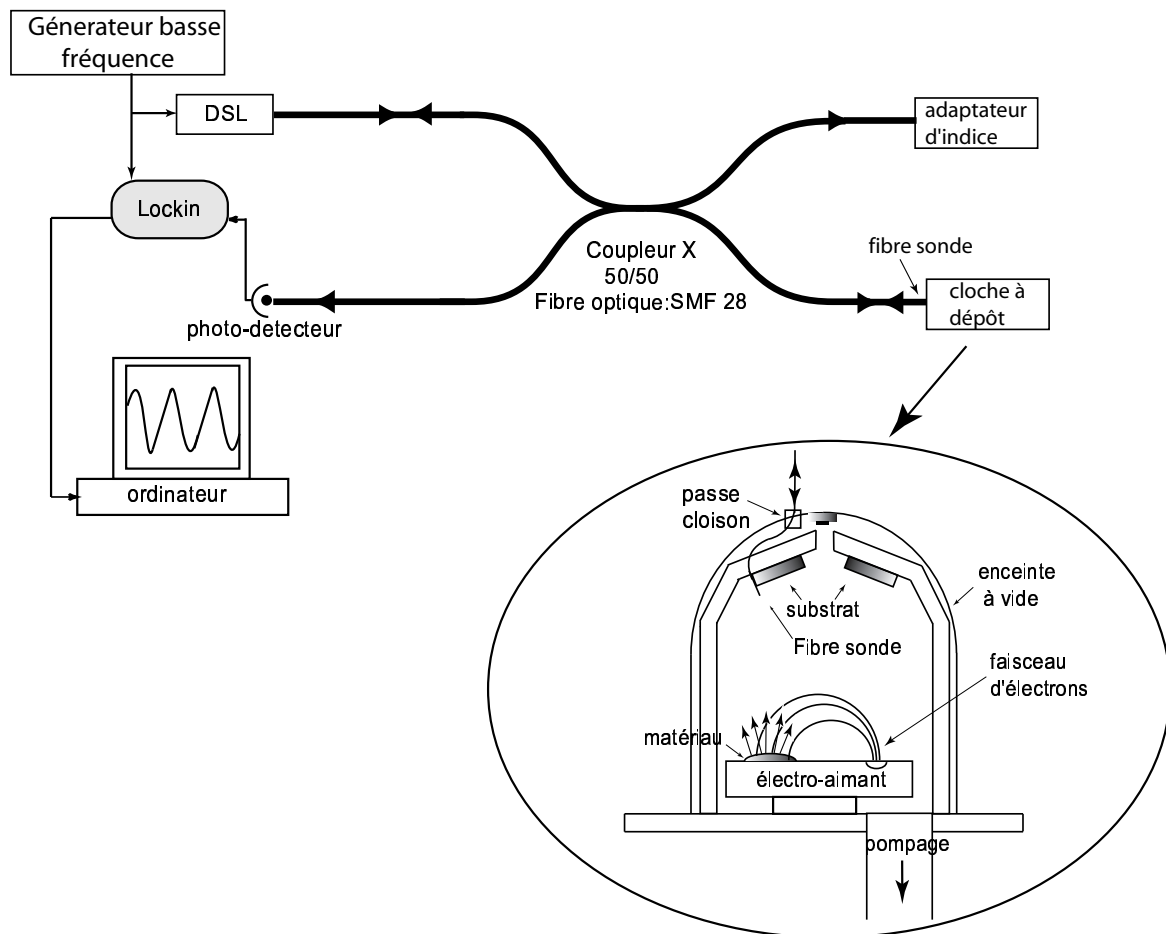


FIG. 3.3 – Dispositif expérimental du contrôle *in situ*.

Dans le cadre de notre travail, nous réalisons des miroirs semi-réfléchissants à la longueur d'onde $1,31 \mu\text{m}$. Nous avons choisi une DSL émettant dans cette fenêtre de longueur d'onde. Si la

fabrication de miroirs prévus pour une autre longueur d'onde est envisagée, il faudra prendre soin d'adapter les longueurs d'onde de travail de la source et des fibres. Remarquons ici le caractère universel de notre méthode. Ce travail est développé dans le cadre d'une étude de miroirs en bout de fibre. Il serait envisageable d'élargir ce contrôle via la fibre pour des échantillons massifs.

3.2.2.3 Aspect théorique : calcul du coefficient de réflexion

Avant de commencer toute expérience, il est important de modéliser le problème de réflexion en bout de fibre. Pour ce faire, nous nous basons sur l'étude théorique effectuée dans la partie 2.5.2.1 qui donne l'expression générale du coefficient de réflexion pour une structure multicouche.

Les milieux déposés pour la réalisation des miroirs sont homogènes et isotropes. De plus, l'épaisseur des miroirs étant très petite devant la longueur d'onde nous négligeons les effets de diffraction.

Suite à ces diverses observations, nous considérons que nous sommes en incidence normale. Il ne sera donc pas nécessaire de tenir compte de la polarisation de la lumière.

Considérons un substrat d'indice optique n_o , sur lequel nous déposons m couches successives, d'indice optique n_p , où $p \in [1, m]$.

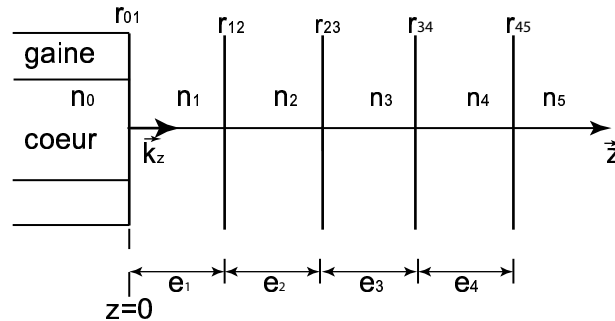


FIG. 3.4 – Représentation des paramètres définissant un dépôt multicouche en bout de fibre.

En suivant le formalisme de la partie 2.5.2.1, le coefficient de réflexion en amplitude de la structure multicouche de la figure 3.4 s'écrit donc :

$$R = R_{0,1} \oplus [R_{1,2} \oplus [R_{2,3} \oplus [\dots \oplus [R_{m-2,m-1} \oplus R_{m-1,m}]\dots]]] \quad (3.1)$$

où :

$$R_{p,p+1} \oplus R_{p+1,p+2} = \frac{R_{p,p+1} + R_{p+1,p+2}}{1 + \overline{R_{p,p+1}} \cdot R_{p+1,p+2}} \quad (3.2)$$

et où :

$$R_{p,p+1} = r_{p,p+1} \cdot \exp \left(2.i. \sum_{p=1}^m \beta_p \right) \quad (3.3)$$

$$R_{p,p+1}^* = r_{p,p+1} \cdot \exp \left(-2.i. \sum_{p=1}^m \beta_p \right) \quad (3.4)$$

L'équation 3.1 exprime le coefficient de réflexion en amplitude pour un système composé de m couches. La connaissance de R tout au long du dépôt nous permettra par la suite de comparer nos résultats expérimentaux aux prévisions théoriques.

3.2.2.4 Réalisation de miroirs monocouches

Le matériau retenu pour la réalisation de miroirs monocouches semi-réfléchissants en extrémité de fibre est le dioxyde de titane (TiO_2). Il présente un grand nombre de propriétés physiques telles que :

- une bonne résistance mécanique et chimique
- une excellente transmission optique dans le visible et le proche infra-rouge.

Tous ces paramètres font du dioxyde de titane un excellent candidat pour la réalisation de miroirs semi-réfléchissants.

Dans la littérature, de nombreux articles sont consacrés à la comparaison des propriétés optiques des films de TiO_2 obtenus par différents procédés de dépôt. Il est reconnu qu'une grande dispersion des valeurs de l'indice optique et du coefficient d'absorption sont observées pour des petits changements dans le processus de dépôt. L'influence des variations des paramètres de dépôt sur les propriétés optiques du film a été étudiée par de nombreux auteurs [77]-[78]. Les principaux paramètres qui influencent les propriétés du film sont le taux d'évaporation du matériau, la température du substrat et la pression d'oxygène pendant le dépôt.

C'est pourquoi nous avons choisi de fixer ces paramètres au départ de nos expériences et de les garder constants pour tous nos dépôts.

3.2.2.5 Dépôt de dioxyde de titane (TiO_2).

Le dépôt se fait par évaporation sous vide par faisceau électronique (*electron beam*) et est contrôlé en temps réel. Le matériau utilisé est une pastille de dioxyde de titane. Le taux de dépôt a été mesuré et nous obtenons 5 Å par seconde, aucune dérive n'est observée sur ce paramètre. La pression dans la cloche au départ du dépôt est égale à 10^{-6} mbar, et la température de l'ordre de 25°C. Le dépôt est réalisé dans deux configurations différentes, avec et sans flux d'oxygène. Avant de commencer tout dépôt un éffluage est recommandé (observations expérimentales).

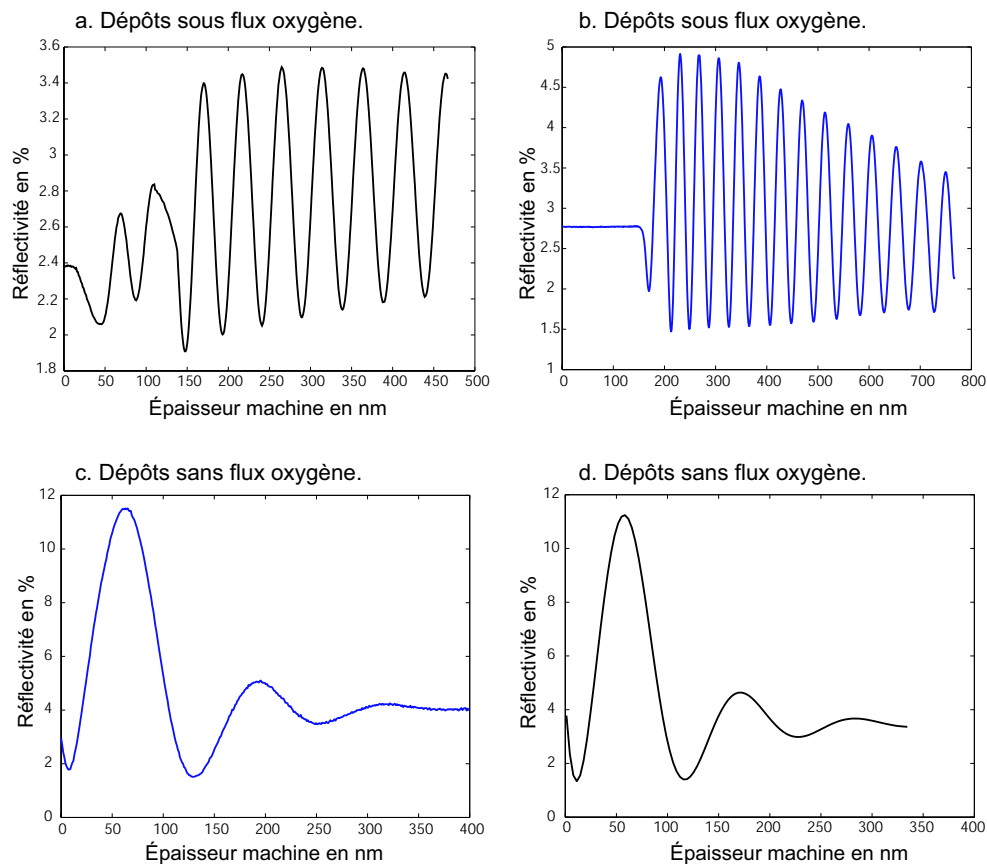


FIG. 3.5 – Courbes expérimentales du dépôt de TiO_2 .

Comme précédemment, nous avons un accès direct à l'intensité de la lumière réfléchiée par le film en fonction de l'épaisseur donnée par la machine.

Nous constatons expérimentalement que le dépôt avec flux d'oxygène (cf. figure 3.5(a) et (b)), présente des résultats très différents d'un dépôt à l'autre ainsi qu'une réflectivité du film très faible. N'ayant aucun contrôle sur le flux d'oxygène et ne sachant pas comment relier ces

résultats à des paramètres physiques propres à la techniques de dépôt, nous avons préféré réaliser nos dépôts de TiO_2 sans flux oxygène. Il s'avère de plus, que cette méthode est bien plus reproductible que la première avec le matériel en notre possession.

D'autre part, nous nous sommes aperçu que l'épaisseur machine fournie par la balance à quartz présentait une forte différence par rapport à l'épaisseur réelle du dépôt. Ce défaut a été résolu en intégrant un facteur correctif relatif à la nature du dépôt. Dans notre cas, pour un dépôt de TiO_2 , le facteur correctif est égal à 2,67.

Nous remarquons également que les courbes ont un amortissement caractéristique des matériaux présentant des pertes (absorption, diffusion...). Ces pertes peuvent être expliquées par la nature du TiO_2 déposé qui présente un indice complexe et non pas réel. Nous formulons l'hypothèse (qu'il faudrait vérifier par une micro-analyse du matériau déposé) que le dépôt est constitué d'îlots de Ti dans une matrice de TiO_2 .

Parallèlement, nous obtenons une réflexion maximum de l'ordre de 12% (théoriquement ce coefficient de réflexion est de l'ordre de 20%), ce qui est insuffisant pour les travaux que nous réalisons. Il est donc impossible dans notre cas de réaliser des miroirs monocouches suffisamment réfléchissants. Nos travaux s'orienteront donc vers la conception d'un autre type de miroir semi-réfléchissant, les miroirs multicouches.

Ce types de miroirs présentent une réflectivité supérieure à celle des monocouches, mais demandent une réalisation plus complexe. Il est en outre indispensable, vu les caractéristiques des précédents dépôts, de déterminer les paramètres optiques (indices réels et imaginaires) des éléments qui constituent nos multicouches.

3.2.2.6 Étude du TiO_2 et du dioxyde de silicium SiO_2

Nous allons à présent déterminer les indices optiques des films déposés et les différents paramètres de l'expérience (taux de dépôt, température du substrat..).

Pour ce faire nous pratiquons un *fitting* sur l'indice réel et imaginaire de notre matériau. Ce *fitting* est établi à partir de l'expression 3.1 du coefficient de réflexion et des résultats expérimentaux.

Dans le cas d'un miroir monocouche, le coefficient de réflexion en amplitude s'écrit :

$$R(\lambda) = R_{0,1} \oplus R_{1,2} \quad (3.5)$$

avec :

$$R_{0,1} = r_{01} = \frac{n_0 - n_1}{n_0 + n_1} \quad (3.6)$$

$$R_{1,2} = r_{12} \cdot \exp(2.i.\beta_1) \text{ et } r_{12} = \frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \quad (3.7)$$

où :

- n_0 : indice optique du substrat, qui est dans notre cas une fibre optique pour laquelle $n_0 = 1,4675$.
- n_1 : indice optique du matériau, $n_1 = n_{1r} + i.n_{1i}$.
- n_2 : indice optique du vide dans la cloche égal à 1.

Le coefficient de réflexion en intensité s'écrit donc :

$$R_I = \int |R|^2 \cdot S(\lambda) d\lambda = \int \left| \frac{R_{01} + R_{12}}{(1 + \overline{R_{01}} \cdot R_{12})} \right|^2 \cdot S(\lambda) d\lambda \quad (3.8)$$

où : $S(\lambda)$ est la densité spectrale de puissance de la DSL

• Cas du TiO_2 :

Ce *fitting* sera donc fait pour une dizaine de mesures expérimentales, nous ne présentons ici qu'une seule courbe mais les valeurs données ci-dessous sont une moyenne de ces différents *fitting*.

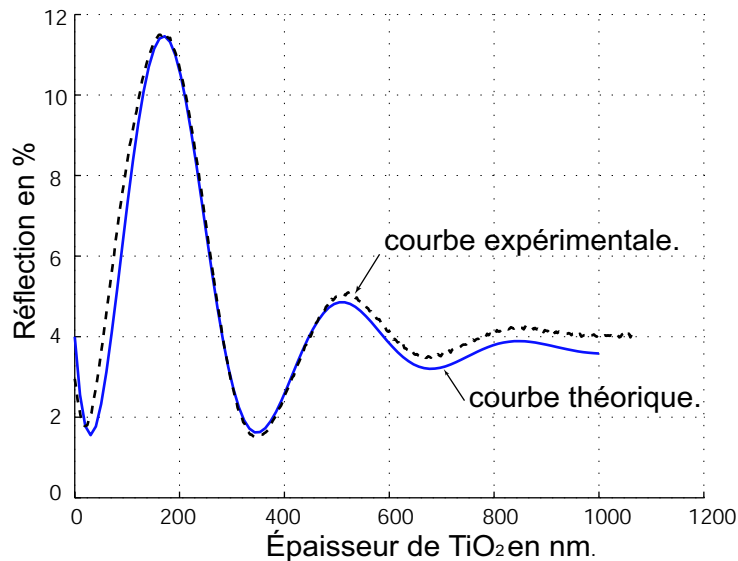


FIG. 3.6 – Courbe fittée du dépôts de TiO_2 .

L'indice optique moyen du matériau et l'écart type relatif à la campagne de mesure (15 mesures expérimentales) ainsi déterminé est :

$$n_{1_r} = 1,94 \pm 0,02 \quad \text{et} \quad n_{1_i} = 0,5 \pm 0,01$$

• Cas du SiO_2 :

Pour le dioxyde de silicium, l'indice optique donné par le constructeur correspond avec les grandeurs expérimentales mesurées. Nous considérons donc que l'indice du SiO_2 est égal à $1,46 \pm 0,01$.

3.2.2.7 Réalisation de miroirs multicouches

Disposant à présent des caractéristiques optiques (indices imaginaires et réels) des différents éléments qui constituent nos multicouches, nous réalisons donc ce type de miroirs. Il semble indispensable de caractériser théoriquement nos multicouches, c'est-à-dire de déterminer les épaisseurs des couches successives qui optimiseront le coefficient de réflexion de notre miroir. Cette étude basée sur des calculs purement mathématiques ne sera pas développée dans cette partie.

La courbe figure 3.7 (a) nous donne tout d'abord les épaisseurs théoriques successives des différentes couches. Suite à l'observation de la courbe théorique, nous nous apercevons ici que la réflectivité maximale de notre miroir est obtenue pour des épaisseurs de dépôt qui correspondent :

- au maximum de réflectivité pour le TiO_2
- au minimum de réflectivité pour le SiO_2 .

De plus dans notre configuration, c'est-à-dire avec les indices optiques des matériaux déterminés précédemment, la réflexion du miroir tend vers une valeur asymptotique de l'ordre de 30%.

Suite à cette observation et à de nombreux dépôts tests, nous avons décidé de limiter nos miroirs à trois paires de couches (TiO_2/SiO_2).

On constate d'une part, que pour le dépôt expérimental figure 3.7(b), contrôlé en temps réel, la réflectivité obtenue est très proche de la valeur asymptotique théorique. Ces résultats sont très positifs, car nous obtenons la réflectivité désirée ($\sim 30\%$) pour la suite de nos travaux, c'est-à-dire pour la réalisation d'une cavité Fabry-Pérot. D'autre part, nous observons une très bonne concordance entre les épaisseurs théoriques et expérimentales.

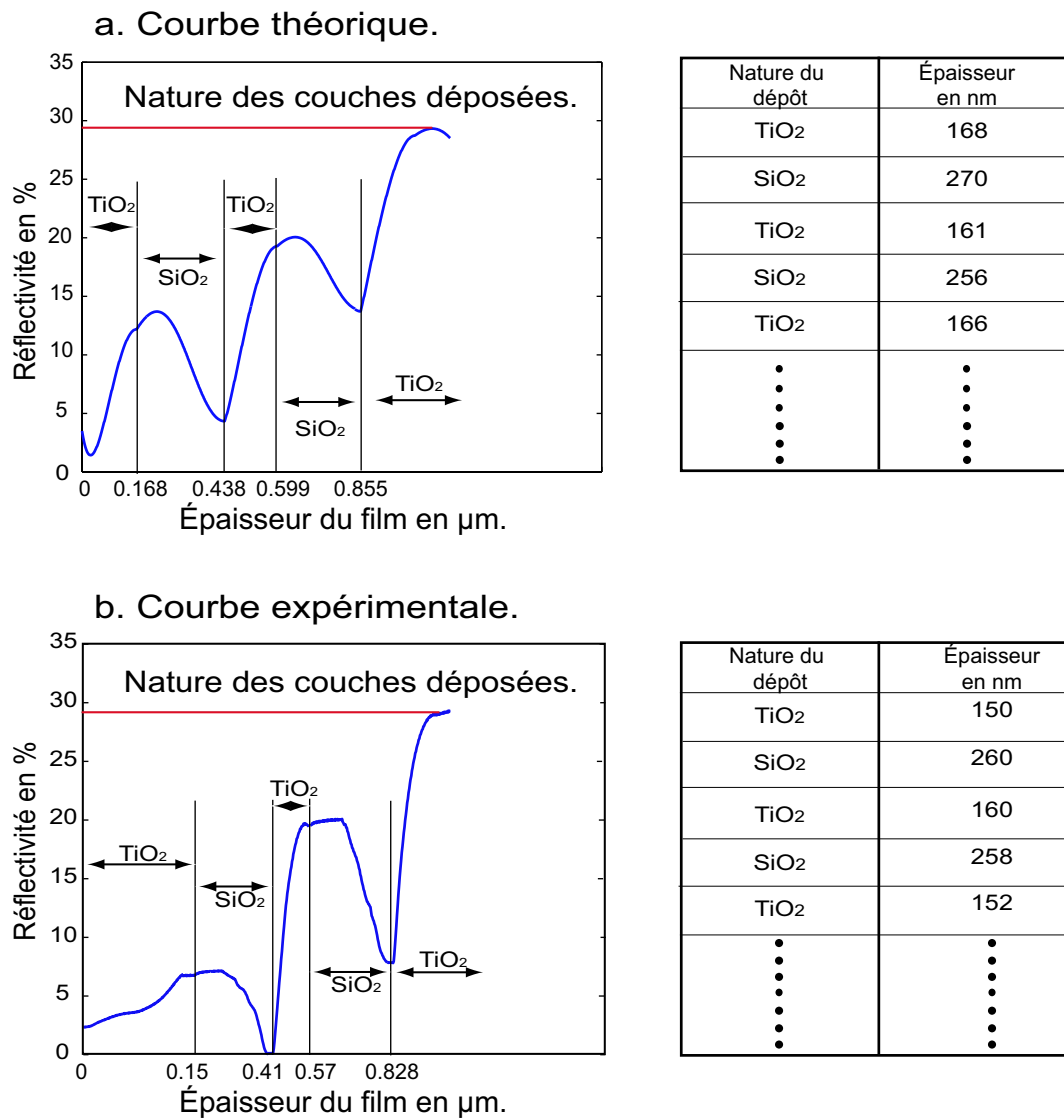


FIG. 3.7 – Courbes théorique et expérimentale du dépôt d'un miroir multicouches.

3.2.2.8 Micro-fabrication de miroirs en extrémité de fibre

• Présentation de la micro-fabrication

Nous avons décrit la réalisation de miroirs multicouches en bout de fibre, sur toute la surface de celle-ci. Il faut cependant se rappeler que l'étape suivante dans la réalisation d'une cavité consiste à réaliser des soudures. Lors de cette étape les miroirs subissent d'importantes dégradations [79]. De plus il a été montré [80] qu'une soudure verre/verre est plus résistante

qu'une soudure verre/ TiO_2 . Dans ce contexte, il nous a semblé intéressant de développer une méthode nous permettant de réaliser des miroirs uniquement sur le cœur des fibres. Ces miroirs ainsi réalisés ne représentent plus que 2,5% de la surface totale de la fibre (sans modification du coefficient de réflexion), ce qui permet d'obtenir des soudures plus solides et ainsi une cavité plus résistante aux contraintes mécaniques.

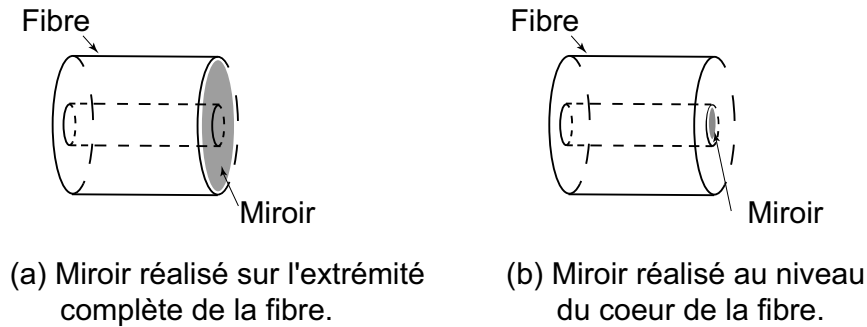


FIG. 3.8 – Schéma des deux types de miroirs.

• Réalisation de miroirs sur le cœur de la fibre

Dans la réalisation de ce type de miroirs nous nous sommes inspirés des travaux de T. Rossmanith et al. [81], ils ont réalisé des miroirs sur le cœur d'une fibre grâce à des méthodes basées sur des dépôts sol-gel. Notre méthode de réalisation dérive des principes de photolithographie classique : nous réalisons un masque en bout de fibre (figure 3.9).

Pour ce faire, nous allons tout d'abord enduire par *deep coating* l'extrémité de notre fibre. La résine utilisée pour l'enduction de la fibre est une résine Shipley S1805. C'est une résine positive fine, nous pratiquons donc un *lift-off* (figure 3.9), le film obtenu a une épaisseur d'environ $2\mu\text{m}$. La résine est localement insolée par injection de lumière dans la fibre (la plage d'insolation de la résine photosensible s'étend entre 340nm et 430 nm). La source lumineuse choisie pour l'insolation est une diode laser violette à base de InGaN/GaN qui fonctionne à 300K en mode continu, sa longueur d'onde est égale à 417 nm, la puissance de sortie de notre diode laser est égale à $500\mu\text{W}$. Dans notre montage expérimental, afin de rester dans les gammes de puissance nécessaires à l'insolation de la fibre, nous utilisons une densité optique de 3, les temps d'insolation (pour une puissance d'environ $0,625\text{ W/cm}^2$) sont alors identiques aux procédés technologiques relatifs à notre résine. Après développement de la résine (*stripping*) nous obtenons un miroir localisé sur le cœur de la fibre. La fibre utilisée est une fibre "telecom" classique (SMF28), le diamètre de cœur est de $9\mu\text{m}$ et le diamètre de gaine de $125\mu\text{m}$. La taille de notre miroir est limitée par les paramètres intrinsèques à notre dispositif expérimental (diffraction, sur

insolation et développement).

Lift-off

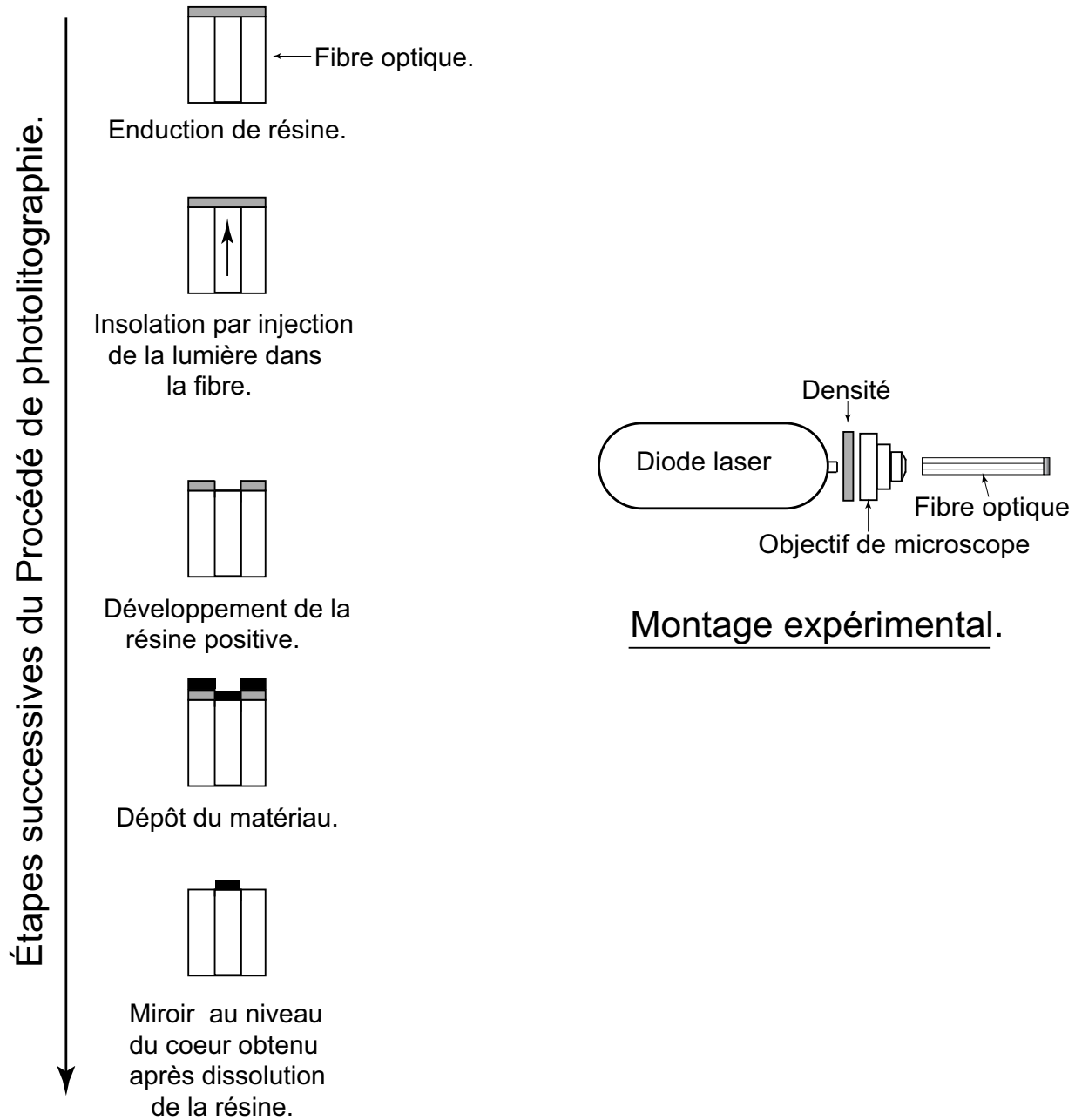


FIG. 3.9 – Principe de réalisation des micro-miroirs par *lift-off*.

Le miroir obtenu figure 3.10 a un diamètre égal à $20\ \mu\text{m}$, ce diamètre est supérieur au diamètre du coeur de notre fibre. C'est le plus petit miroir que nous pouvons réaliser actuellement.

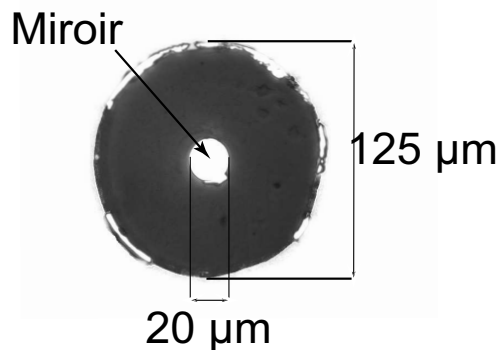


FIG. 3.10 – Photographie au microscope d'un micro-miroir réalisé en bout de fibre.

3.2.3 Conclusion

Nous avons présenté dans cette partie la réalisation de miroir en bout de fibre. Cette première étape est primordiale dans la réalisation de notre cavité. En effet, suite à l'étude faite au chapitre 2, la réflectivité des miroirs dans l'interféromètre doit être de l'ordre de 10%, ce qui nécessite d'avoir une réflectivité d'environ 30% avant soudure. Afin de parvenir à ces valeurs, nous avons donc développé une méthode de contrôle qui nous permet de réaliser des miroirs multicouches en bout de fibre avec les réflectivités souhaitées. De plus, deux types de miroirs sont développés avant de passer à l'étape suivante qui est la soudure de fibres.

Dû à des problèmes technologiques (dysfonctionnement de la machine à dépôt), cette seconde étape est réalisée sur des fibres entièrement recouvertes en leurs extrémités par des miroirs multicouches.

3.3 Soudure des fibres

3.3.1 Introduction

La seconde étape de réalisation de la cavité Fabry-Pérot intrinsèque est l'intégration permanente de nos miroirs entre deux fibres optiques (figure 3.11).

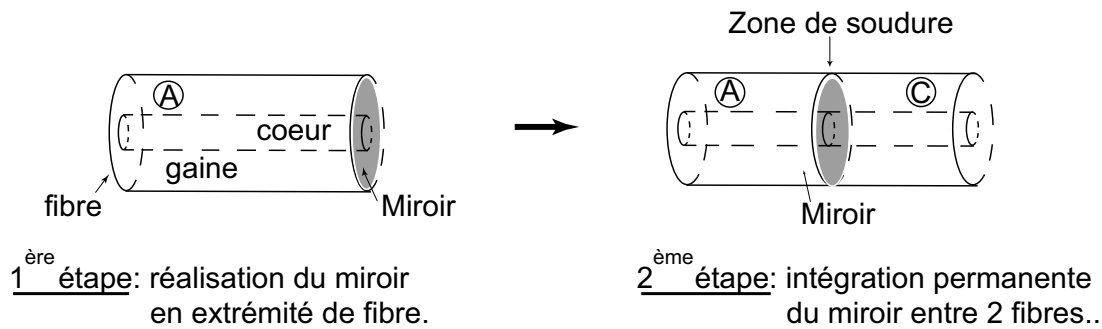


FIG. 3.11 – Seconde étape de réalisation de l'interféromètre de Fabry-Pérot.

Pour ce faire, la méthode retenue est la soudure. Cette étape traumatisante pour le miroir doit être parfaitement contrôlée afin d'assurer une réflectivité en fin de processus comprise entre 10 et 15% avec une bonne résistance mécanique de la jonction.

Avant de présenter le processus développé pour satisfaire à ces différents critères, nous exposerons tout d'abord le principe général de soudure de deux fibres optiques. Puis, nous présenterons notre méthode pour souder une fibre "nue" et une fibre recouverte en son extrémité d'un miroir. Nous terminerons cette partie, par la présentation succincte du système réalisé pour caractériser la résistance mécanique de nos soudures.

3.3.2 Principe général de la soudure de deux fibres optiques

3.3.2.1 Présentation du principe

Lors de l'étude d'un réseau optique, il faut tenir compte des pertes (atténuations) des fibres et des interconnexions. Sur une liaison optique, les raccordements peuvent être réalisés par :

- épissure par fusion ;
- épissure mécanique ;
- connecteurs optiques.

L'épissure par fusion diffère des autres modes de connections car les fibres optiques sont soudées définitivement entre elles à l'aide d'un arc électrique. Le résultat est une soudure physique entre les fibres, sans bulle d'air ni inclusion.

Dans la pratique, on utilise pour cela des soudeuses optiques par fusion.

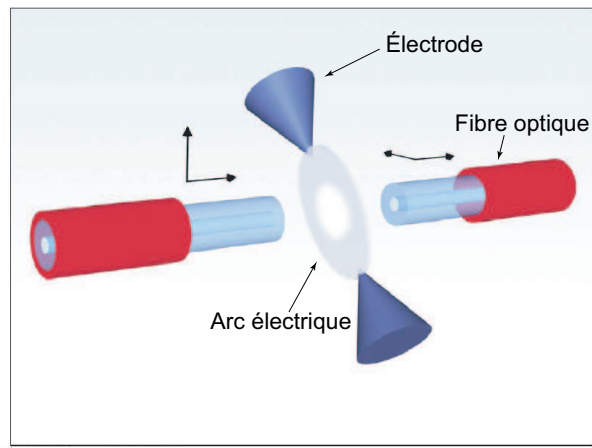


FIG. 3.12 – Principe d'épissure optique par fusion.

Ce procédé est relativement connu et parfaitement maîtrisé. La soudure est obtenue par la production d'un arc électrique qui fait fondre localement les extrémités des deux fibres mises en contact. Nous obtenons alors une excellente soudure qui a une résistance mécanique importante et dont les pertes sont relativement faibles (valeurs moyennes d'atténuation inférieure à 0,05 dB).

La réalisation d'une épissure ou soudure comprend six phases :

1. le dénudage des extrémités des fibres
2. la préparation des extrémités des fibres avec un outil de clivage
3. l'insertion et alignement des fibres dans la soudeuse optique
4. la fusion des fibres par un arc électrique entre deux électrodes
5. l'analyse de l'épaisseur finale
6. la protection et stockage de l'épissure

Nous allons à présent nous attacher à décrire sommairement les quatre premières étapes qui constituent la soudure de deux fibres optiques. Ces principales étapes sont primordiales car elles conditionneront la suite de nos travaux et assureront une bonne soudure.

3.3.2.2 Description du principe

La soudure est la méthode de raccordement permanent de fibres la plus précise.

Avant la soudure, le revêtement de protection (gaine mécanique) de la fibre est retiré. Pour ce faire deux méthodes de dénudage de la fibre sont possibles :

- un dénudage mécanique à l'aide d'une pince à dénuder ;
- un dénudage chimique par attaque de la gaine mécanique par un acide approprié.

Les techniques de dénudage mécanique sont des méthodes traumatisantes pour les fibres. Le dénudage chimique est une nouvelle voie actuellement explorée [82]. Ces études portent sur les répercussions des différents traitements chimiques sur la résistance mécanique et la réflexion de la fibre après soudure.

La fibre est ensuite rendue fonctionnelle par l'étape de préparation de ces extrémités. Les faces optiques doivent être planes, perpendiculaires à l'axe et d'aspects "miroirs". Deux méthodes sont utilisées pour l'obtention de telles faces : le polissage ou la fracture.

La fracture est particulièrement recommandée pour la plupart des manipulations hors connectique. Il convient tout de même d'optimiser le choix de l'outil à fracture en fonction du type de fibre, des résultats recherchés, de la facilité de manipulation et du coût. Les épissures par soudure imposent l'utilisation de cliveurs extrêmement fiables, particulièrement en ce qui concerne le défaut angulaire. Il est impératif que celui-ci soit inférieur à 1° pour l'obtention d'une bonne soudure.

Avant la soudure, le positionnement des deux fibres est réalisé grâce à des micromanipulateurs et est contrôlé optiquement. Ce contrôle optique est assuré par l'envoi d'un faisceau lumineux intense dans l'une des deux fibres et en mesurant la quantité de lumière transmise dans l'autre. Le positionnement idéal coïncide avec un maximum de lumière transmise.

Après positionnement des deux fibres, la soudure est obtenue par la production d'un arc électrique qui fait fondre localement les deux fibres mises en contact.

Toutes les soudeuses optiques actuelles disposent de programmes prédéfinis en usine pour tous les types courants de fibres ou pour des fibres spéciales. L'utilisateur peut, le cas échéant, définir simplement des programmes spécifiques. Tous les paramètres influant sur la qualité de la soudure sont programmables, le processus de soudure peut ainsi être piloté individuellement.

Après une description du processus, il est nécessaire de déterminer les différents paramètres qui pourraient entraîner une mauvaise soudure (résistance mécanique faible, pertes trop importantes, mauvaises transmissions..).

3.3.2.3 Paramètres influant sur le processus de soudure

Le processus de soudure est influencé par différents facteurs dont les plus importants sont les suivants :

- Effet d'auto-centrage.

On désigne par effet d'auto-centrage la tendance de la fibre de verre à former une épissure homogène, pratiquement sans défaut d'alignement, grâce à la tension superficielle du verre fondu.

En raison de cet effet naturel, les soudeuses optiques permettent d'obtenir des valeurs moyennes d'atténuation inférieures à 0,05 dB, sur des fibres avec une excentricité de cœur réduite (inférieure à $0,4 \mu\text{m}$ par exemple).

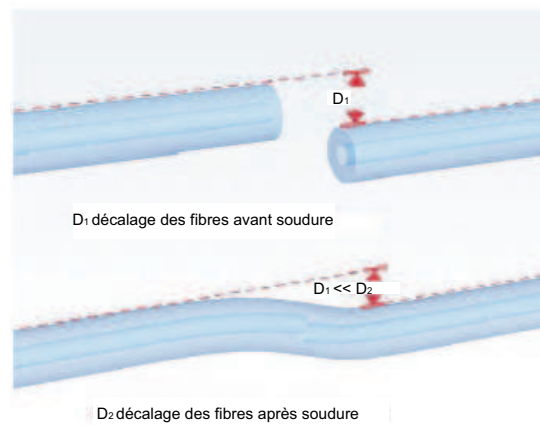


FIG. 3.13 – Effet d'auto-centrage.

- Qualité de l'extrémité de la fibre.

La qualité de l'extrémité des fibres à fusionner influe directement sur les pertes au niveau de la soudure. Lors du clivage des fibres à souder, l'extrémité des fibres doit être propre, non écornée, plane et parfaitement perpendiculaire à l'axe de la fibre. Une grande majorité des soudeuses optiques détectent les impuretés et les dommages physiques grâce au système de contrôle vidéo et délivrent un message d'avertissement si après deux tentatives de nettoyage à l'arc, la fibre présente des défauts.

Ainsi, la perte d'épissure obtenue est toujours optimale et la préparation des fibres ne doit être répétée que si cela est vraiment nécessaire.

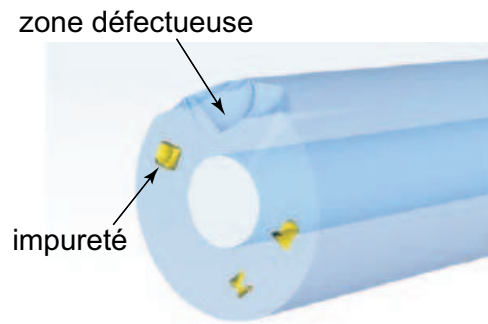


FIG. 3.14 – Exemple d'extrémité défectueuse.

– Qualité de la préparation de la fibre.

Lors de la préparation des fibres à souder, c'est-à-dire lors du dénudage et du clivage, il faut absolument s'assurer que le verre de la fibre n'est pas endommagé. Tout dommage sur le verre non protégé risque de produire des micro-fissures entraînant la rupture de la fibre pendant sa manipulation, sa soudure, son utilisation ou son stockage.

– État des électrodes.

Un arc de fusion reproductible et stable est indispensable pour réaliser des soudures de grande qualité. L'arc électrique est influencé essentiellement par l'état des électrodes, même en fonctionnement normal. Il faut donc périodiquement procéder à un nettoyage de celles-ci (manuel ou par arc électrique) ou bien les remplacer.

3.3.3 Application du procédé de soudure à nos travaux

3.3.3.1 Présentation

Comme nous venons de le voir, le procédé le plus répandu pour la connexion permanente de deux fibres optiques est la soudure. Ce procédé est relativement bien connu. Cependant dans notre cas de figure, cette technique est beaucoup plus complexe. En effet, l'une des deux fibres est recouverte en son extrémité par un miroir semi-réfléchissant.

Ce type de soudure n'est pas nouveau en soi, il a été développé en premier par Lee et al. [83] dans le but de réaliser des filtres optiques dans des fibres. Ces différents travaux ont ensuite inspiré la réalisation de cavités Fabry-Pérot intrinsèques. Ce sont aussi Lee et al. [79] qui furent les premiers à développer ce type de systèmes intrinsèques. La réalisation d'interféromètres de

Fabry-Pérot intrinsèques par soudures de fibres optiques a ensuite connu un essor considérable [80]-[81]-[84]. Dans tous ces travaux, la difficulté résultant de la soudure d'une fibre nue et d'une fibre recouverte en son extrémité par un miroir fut étudiée.

Ces différentes lectures et les premiers tests entrepris nous permettent de lister les problèmes auxquels il faudra répondre tout en respectant les différents facteurs (3.3.2.3) énoncés précédemment :

- le contrôle automatique (3.3.2.2) du positionnement des deux fibres avant soudure est rendu caduque par la présence d'un miroir en extrémité de fibre ;
- les programmes de soudures classiques ne sont pas adaptés à ce type de travail. Nous observons une détérioration complète du miroir lors des différentes tentatives de soudure ;
- la résistance mécanique de la soudure n'est plus assurée, l'épissure est d'une très grande fragilité.

Dans le but de s'affranchir de ces différents obstacles et de réaliser des soudures de miroirs répondant à nos attentes, il est primordial d'adapter le principe général de soudures de fibres à notre système.

3.3.3.2 Méthode de contrôle : mesure en continu

La présence d'un miroir en extrémité d'une des deux fibres à souder rend impossible le contrôle automatique du positionnement des fibres avant soudure. Ce contrôle optique est assuré par l'envoi d'un faisceau lumineux intense dans l'une des deux fibres et par la mesure de la quantité de lumière transmise dans l'autre fibre.

Afin de répondre à ce premier problème et d'obtenir une soudure avec un alignement parfait et un minimum de pertes au niveau de l'épissure, nous devons développer un système de contrôle. Ce système développé reprend le principe utilisé dans les soudeuses optiques.

A l'aide d'une source optique (DSL, $\lambda = 1,31 \mu\text{m}$, $\Delta\lambda = 40 \text{ nm}$), un faisceau lumineux est envoyé dans l'une des fibres. Le positionnement des fibres est assuré par une utilisation manuelle des micro-manipulateurs et par un contrôle de la lumière transmise dans la seconde fibre. Le positionnement idéal coïncide avec le maximum de lumière transmise dans cette seconde fibre.

Ce montage (figure 3.15) est inspiré du montage utilisé pour le contrôle du dépôt des miroirs (3.2.2.2).

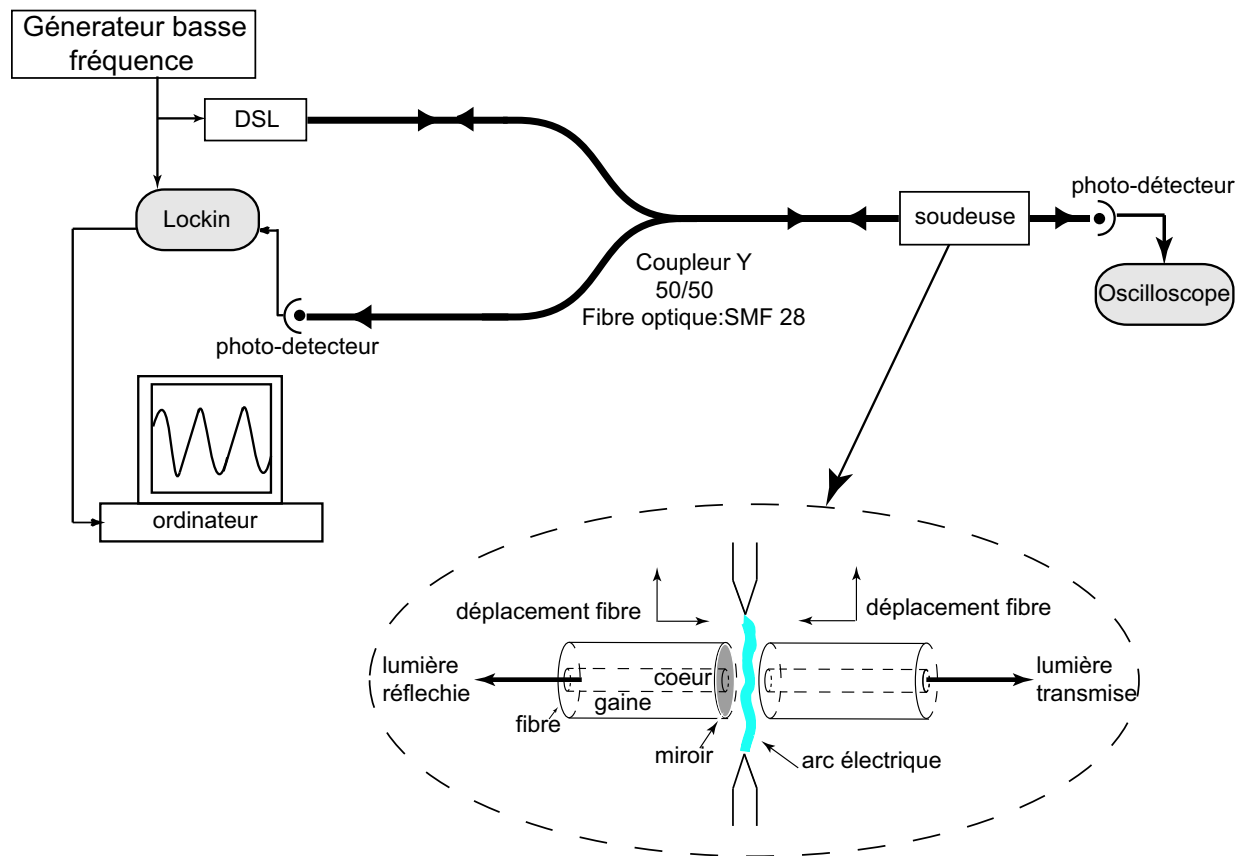


FIG. 3.15 – Dispositif expérimental du contrôle in situ.

La qualité des miroirs et plus particulièrement la réflexion de ceux-ci est un point essentiel de nos travaux.

L'utilisation d'un coupleur Y dans notre montage nous permet de suivre en temps réel l'évolution de la quantité de lumière réfléchie par le miroir au cours du processus de soudure. Nous avons donc un accès permanent à la réflectivité du miroir, ce qui nous permet par la suite d'adapter nos programmes de soudure de façon à obtenir le coefficient de réflexion nécessaire.

3.3.3.3 Programme de soudure

Les soudeuses optiques actuelles disposent de programmes prédéfinis en usine pour tous les types courants de fibres ou des fibres spéciales.

La fibre utilisée pour la réalisation du biocapteur est une fibre telecom SMF 28. Ce type de fibre est très répandu et couramment utilisé.

La soudeuse utilisée est une Ericsson FSU 995 HS. Elle dispose d'un programme pré-établi pour ce type de fibre. Ce programme présente les caractéristiques suivantes :

| | | |
|---|--------------------|---|
| Program 01 "NORMAL SM + SM" Standard single fiber Normal splicing | | |
| Prefuse time | 0,2 s | } production d'un arc électrique de faible intensité et de courte durée, destiné au nettoyage des fibres. |
| Prefuse Current | 10 mA | |
| Gap | 50 μm | } espacement des deux fibres avant la soudure |
| Overlap | 10 μm | |
| Fusion time 1 | 0,3 s | } production du premier arc électrique |
| Fusion Current 1 | 10,5 mA | |
| Fusion time 2 | 2 s | } production du second arc électrique |
| Fusion Current 2 | 16,3 mA | |
| Fusion time 2 | 2 s | } production du troisième arc électrique |
| Fusion Current 2 | 12,5 mA | |
| Left MFD | 9,8 μm | } diamètre du coeur des deux fibres à souder |
| Right MFD | 9,8 μm | |
| Set center | 255 | } paramètres internes de la soudeuse liés aux différents contrôles |
| AOA current | 0 mA | |
| Early prefusion | No | |
| Align accuracy | 0,15 μm | |
| Loss shift | 0 dB | |
| Auto arc center | No | |

FIG. 3.16 – Programme pré-établi pour la soudure de deux fibres SM-SM.

Ce programme de soudure peut être décomposé en trois grandes parties :

- la première étape consiste en un dernier nettoyage des fibres. Pour ce faire, un arc électrique d'intensité moyenne et de courte durée est appliqué aux extrémités des deux fibres ;
- la seconde étape est le positionnement des deux fibres, avec un espacement de 50 μm avant soudure et un recouvrement de 10 μm durant la soudure ;
- la dernière étape est la soudure. Nous nous apercevons que l'épissure entre deux fibres est obtenue par une répétition successive de trois arcs électriques dont les intensités et les durées diffèrent.

Les derniers paramètres du programme sont des paramètres internes de la soudeuse liés aux différents contrôles.

À partir de ce premier programme, nous allons tenter de réaliser une soudure entre une fibre "nue" et une fibre entièrement recouverte en son extrémité par un miroir semi-réfléchissant.

L'étape de préparation des fibres (3.3.2.3) précédant l'étape de soudure est primordiale. Les fibres sont dénudées mécaniquement à l'aide d'une pince Micro-strype[®]. Elles sont ensuite nettoyées par rinçage successif à l'alcool puis à l'eau. Le clivage des fibres est assuré par un outil à fracture. L'outil retenu est une cliveuse Ericsson EFC 11 assurant un défaut angulaire inférieur à 1°.

Après cette seconde étape, un miroir est réalisé sur l'extrémité d'une des deux fibres. Les deux fibres sont alors prêtes à être soudées.

Leur positionnement est assuré par un déplacement manuel des micro-manipulateurs et par notre système de contrôle optique. Après un positionnement optimal des deux fibres, le programme de soudure P01 est activé.

Suite aux différentes expériences réalisées, il s'avère que ce programme ainsi que tous les programmes pré-établis ne sont pas adaptés à nos travaux.

Après soudure, nous observons une détérioration des fibres (figure 3.17) au niveau de l'épissure avec une résistance mécanique de la liaison extrêmement faible et bien insuffisante pour la suite de nos travaux.

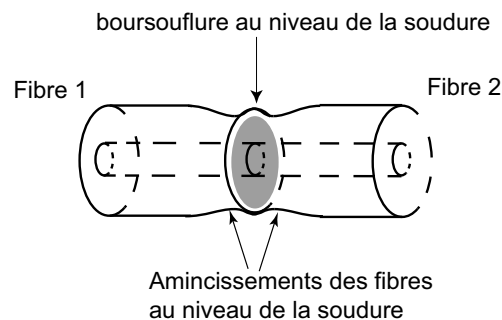


FIG. 3.17 – Détérioration des fibres lors d'une soudure classique.

De plus lors de ces premiers tests, une chute complète de la réflectivité des miroirs est observée (figure 3.18).

A partir du contrôle en temps réel de la quantité de lumière réfléchie par l'extrémité de la fibre, nous observons l'évolution de la réflectivité du miroir au cours du processus. Cette réflectivité chute pour être de l'ordre de 2% en fin de procédure.

La chute du coefficient de réflexion se fait en deux parties. Nous observons tout d'abord une diminution de ce coefficient au moment du "prefuse", c'est-à-dire à l'ultime étape de nettoyage

des fibres. Puis une seconde chute plus importante au moment de la soudure. Ces détériorations des miroirs sont dues à une intensité et à une durée des arcs électriques trop importantes.

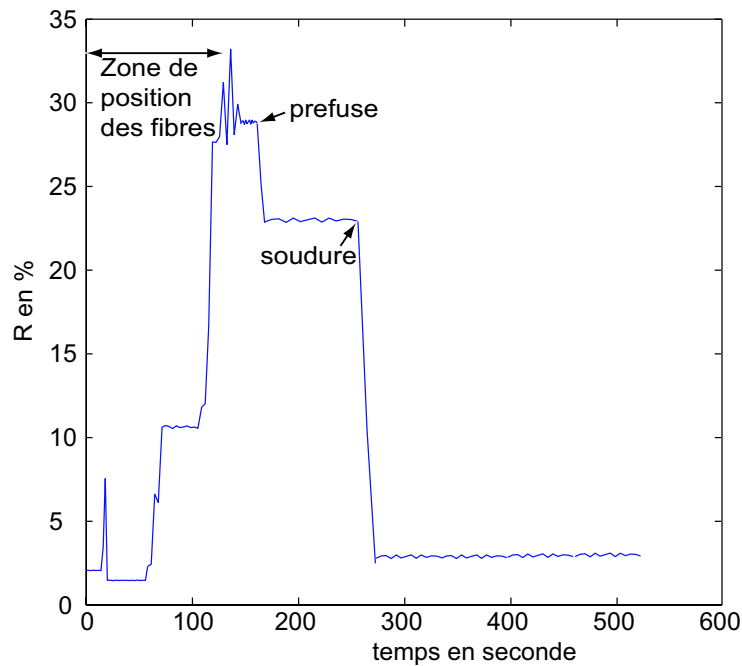


FIG. 3.18 – Courbe expérimentale de l'évolution de la réflectivité du miroir au cours de la soudure à partir du programme 01.

Suite à ces diverses observations expérimentales, il semble nécessaire de développer un programme qui réponde à nos attentes.

L'idée développée est la diminution d'intensité et de durée des arcs électriques. Ces diminutions sont compensées par une répétition plus importante du nombre d'arc électriques. Dans ces conditions, les traumatismes que subissent les miroirs sont moins importants.

De plus le contrôle en temps réel de la quantité de lumière réfléchie par l'extrémité du miroir nous permet de stopper le processus dès que la réflectivité désirée est obtenue tout en conservant une résistance mécanique de la liaison suffisante.

Après de nombreux tests sur chaque paramètre du programme développé, nous sommes parvenus au résultat suivant :

| | |
|--|-------------------------------------|
| Program 007 "NORMAL SM + SM" Standard single fiber Normal splicing | |
| Prefuse time | 0,1 s |
| Prefuse Current | 7 mA |
| Gap | 50 μm |
| Overlap | 0,5 μm |
| Fusion time 1 | 0,3 s |
| Fusion Current 1 | 7 mA |
| Fusion time 2 | 0,7 s |
| Fusion Current 2 | 8 mA |
| Fusion time 2 | 0,6 s |
| Fusion Current 2 | 7 mA |
| Left MFD | 9,8 μm |
| Right MFD | 9,8 μm |
| Set center | 255 |
| AOA current | 0 mA |
| Early prefusion | No |
| Align accuracy | 0,15 μm |
| Loss shift | 0 dB |
| Auto arc center | No |

* les paramètres en gras sont ceux qui ont été modifié par rapport aux paramètres de base.

FIG. 3.19 – Programme développé pour la soudure de deux fibres.

3.3.3.4 Réalisation des soudures

À partir du programme P007, il est possible de réaliser ces soudures si particulières (figure 3.20).

Les courbes (figure 3.20) nous donnent l'évolution du coefficient de réflexion en intensité au cours du processus de soudure. Ces courbes peuvent être décomposées en deux parties.

La première partie est relative au positionnement des fibres et au prefuse, c'est-à-dire l'ultime nettoyage des fibres par production d'un arc électrique de faible intensité et de courte durée. Lors de cette étape, nous observons une augmentation de quelques pourcents (entre 2 et 4%) de la réflectivité des miroirs. L'explication la plus plausible vient d'une hypothèse faite par Lee [83] suivant laquelle cette augmentation de réflectivité au début du cycle de soudure provient de l'élimination de la bande d'air comprise entre le miroir et l'extrémité de la fibre "nue".

La seconde partie du processus est la soudure en elle-même. Comme nous l'avons vu précédemment l'épissure est obtenue par répétitions d'un arc électrique. En effet, sur ces différentes courbes obtenues à partir du programme 007, chaque arc entraîne une chute quasi régulière (comprise entre 1 et 2%) de la réflectivité du miroir. Cette diminution constante de la réflexion ainsi que son contrôle en temps réel offre une grande reproductibilité dans le processus de soudure nous permettant alors de satisfaire au cahier des charges ($R \in [10\% \ 15\%]$ et bonne résistance mécanique).

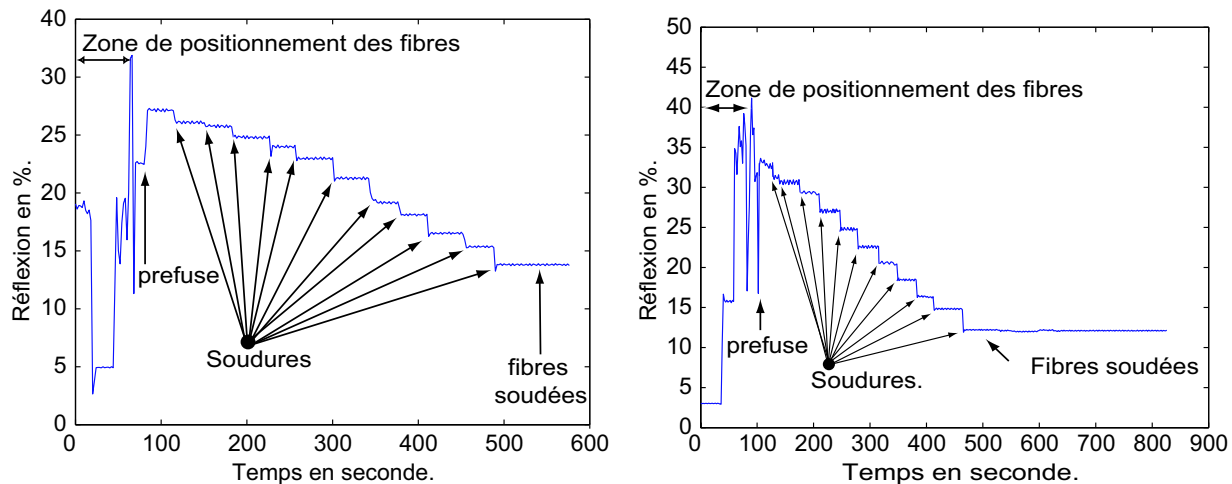


FIG. 3.20 – Courbes expérimentales de l'évolution en temps réel de la réflectivité du miroir au cours de la soudure à partir du programme 007.

A partir du processus développé, c'est-à-dire une combinaison du programme 007 et du contrôle en temps réel, nous sommes capables de souder de manière reproductible des miroirs avec la réflectivité désirée et une résistance mécanique de liaison suffisante pour la suite de nos travaux.

Cependant, il nous a semblé judicieux de caractériser mécaniquement ces épissures.

3.3.4 Caractérisation mécanique des soudures

3.3.4.1 Présentation

Les soudures réalisées doivent présenter une résistance mécanique suffisante pour la suite de nos travaux. En effet, les fibres vont subir de nombreuses manipulations au cours des diverses étapes de fabrication du biocapteur.

De plus, il est intéressant de comparer la résistance mécanique des liaisons pour les deux types de miroirs développés précédemment (cf. 3.2.2.7 et 3.2.2.8).

Pour ce faire, nous avons développé un système mécanique qui permet de mesurer, en statique, la résistance des épissures réalisées.

3.3.4.2 Mesure de résistance

Le système développé est un appareil de mesure de l'extension par tirage des fibres pour étudier la ductilité de l'épissure. Les fibres soudées subissent une déformation permanente sans rupture ni fissure, sous l'effet d'un effort de traction.

Notre instrument de mesure (figure 3.21) s'inspire des extensiomètres utilisés en médecine.

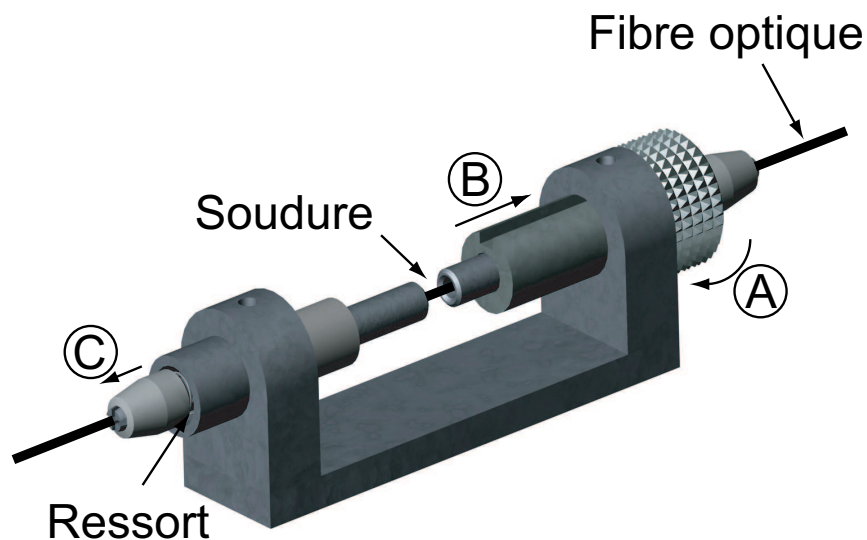


FIG. 3.21 – Extensiomètre pour fibre optique.

Le schéma détaillé ainsi que les différentes coupes de notre extensiomètre sont donnés en annexe.

La rotation de la molette **A** entraîne un déplacement de la tige fileté **B**. Ce déplacement provoque une compression du ressort **C** et donc l'action d'une force opposée au déplacement **B**. Ce sont ces deux actions combinées qui mettent en tension nos fibres, c'est-à-dire qui appliquent un effort de traction sur l'épissure.

La molette **A** est mise en mouvement jusqu'à la rupture de l'épissure ou de l'une des deux fibres. La mesure du déplacement de la tige **B** nous permet, par l'intermédiaire de la courbe

d'étalonnage 3.22 de déterminer la force appliquée sur notre liaison.

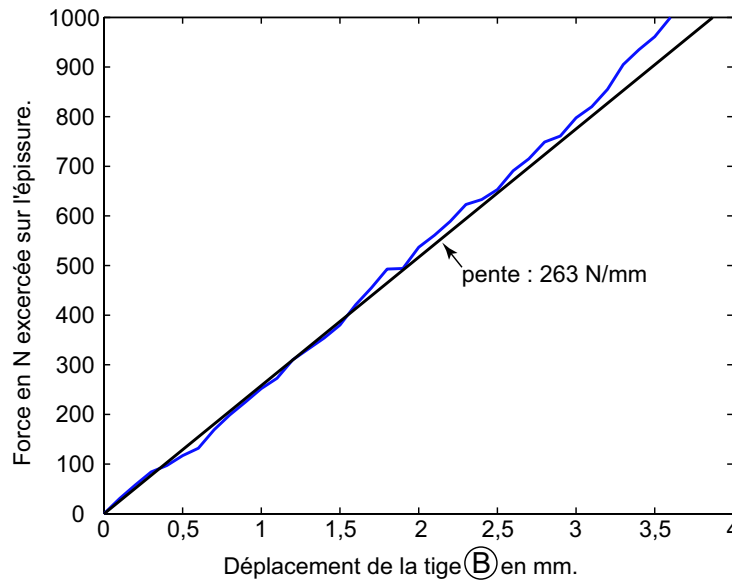


FIG. 3.22 – Courbe expérimentale d'étalonnage de l'extensiomètre.

Malheureusement, par la faute d'un problème lors des dépôts (cloche défectueuse), l'ensemble des miroirs réalisés actuellement ne nous permettent pas d'obtenir un ensemble de résultats pertinents, nous ne développerons donc pas ici la partie relative aux tests expérimentaux.

3.3.5 Conclusion

Les processus développés (réalisation de miroirs et soudures) nous permettent de réaliser notre cavité Fabry-Pérot intrinsèque. En effet, grâce au contrôle en temps réel de la réflexion au cours des différentes étapes de conception, nous avons pu d'une part réaliser des miroirs multicouches en bout de fibres avec les réflectivités désirées, et d'autre part souder ces mêmes fibres tout en conservant des caractéristiques proches du cahier des charges. Soit une réflectivité de miroir comprise entre 10 et 15% et une résistance mécanique pas encore optimale mais suffisante pour poursuivre notre étude et les différentes manipulations qui vont suivre, validant ainsi les processus développés par l'interrogation de cavité Fabry-Pérot.

Cependant, ce point important du cahier des charges (augmentation de la résistance mécanique des soudures) sera réglé par la réalisation de soudure avec des fibres recouvertes d'un miroir au niveau du cœur uniquement. En effet, le laboratoire s'étant équipé d'un nouveau bâti de dépôt par évaporation sous vide, la fabrication de tels miroirs devrait être à nouveau possible.

3.4 Réalisation et caractérisation de la cavité Fabry-Pérot

3.4.1 Réalisation de la cavité Fabry-Pérot

Comme nous l'avons vu tout au long de ce chapitre, la réalisation de l'interféromètre de Fabry-Pérot intrinsèque se décompose en plusieurs étapes. Ces étapes étant maîtrisées, nous pouvons finaliser la réalisation des cavités Fabry-Pérot intrinsèques.

La première étape consiste en la réalisation de miroirs en extrémité de fibres (figure 3.23).

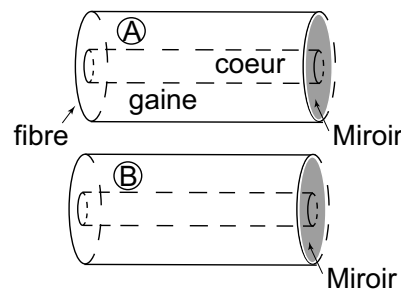


FIG. 3.23 – Réalisation de deux miroirs sur deux bouts de fibres clivées indépendantes.

La fibre A est alors soudée à une fibre "nue" C afin d'obtenir un miroir semi réfléchissant intrinsèque au niveau de l'épissure (figure 3.25).

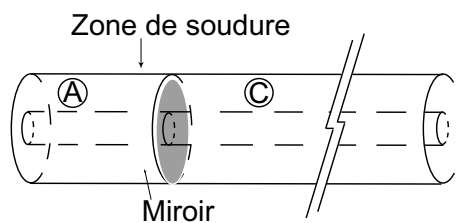


FIG. 3.24 – Réalisation de la première soudure entre la fibre A et une fibre nue clivée C.

La troisième étape consiste à cliver la fibre C (figure 3.25) afin de la préparer à une nouvelle soudure. Pour ce faire la première soudure doit être relativement solide afin de résister aux différentes étapes de préparation de la fibre C.

La fibre est dénudée mécaniquement à l'aide d'une pince Micro-strippe. Elle est ensuite nettoyée par rinçage successif à l'alcool puis à l'eau. Le clivage de la fibre est assuré par une cliveuse manuelle RXS assurant un défaut angulaire inférieur à 1° . La longueur l_c (figure 3.25) est limitée par l'outil de clivage (actuellement $l_{c_{minimum}} = 16 \text{ mm}$).

Lors de cette étape, les efforts subis par la fibre entraînent une fragilisation voir une rupture de la soudure. Dans ces conditions l'utilisation d'outil à fracture est impossible.

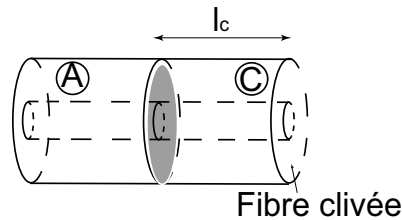


FIG. 3.25 – Clivage de la fibre C à une distance l_c du miroir.

La dernière étape de conception consiste à souder le second miroir (figure 3.26).

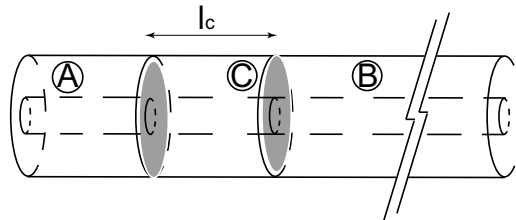


FIG. 3.26 – Réalisation de la seconde soudure entre la fibre C et la fibre B.

Nous obtenons donc une cavité Fabry-Pérot intrinsèque. Les caractéristiques optiques des miroirs (réflectivité...) composant l'interféromètre sont connues. La longueur de la cavité est quant à elle estimée (± 1 mm) par mesure géométrique lors du clivage. C'est ce dernier paramètre que nous allons contrôler lors de la caractérisation expérimentale de l'interféromètre et ainsi valider le processus de réalisation des interféromètres.

3.4.2 Caractérisation de la cavité Fabry-Pérot

Afin de caractériser rapidement et simplement les cavités réalisées et ainsi valider le processus de fabrication de ces derniers, leur interrogation a été faite en utilisant une diode laser accordable en longueur d'onde.

L'idée développée consiste à observer la fonction de transfert en puissance de la cavité en fonction de la variation de longueur d'onde. En mesurant l'intervalle spectral libre (ISL), nous pouvons déterminer la longueur optique de la cavité. La source accordable, mise à notre disposition au laboratoire, émet autour d'une longueur d'onde centrale égale à $1,52 \mu\text{m}$ (bande passante de la fibre SMF-28 [850 - 1550 nm]). Nous ne pouvons donc pas comparer la réflectivité des

miroirs obtenue par cette méthode avec la réflectivité des miroirs obtenue lors du contrôle en temps réel durant l'étape de soudure (mesure de réflectivité effectuée à $1,31 \mu\text{m}$).

Les mesures présentées ci-dessous (figure 3.27) sont réalisées sur une cavité de longueur $l_c = 18 \text{ mm} \pm 1 \text{ mm}$ (longueur mesurée lors de la réalisation expérimentale). La réflectivité des miroirs composant la cavité sont de l'ordre de 10%.

Les mesures sont effectuées sur une variation de longueur d'onde égale à $0,18 \text{ nm}$.

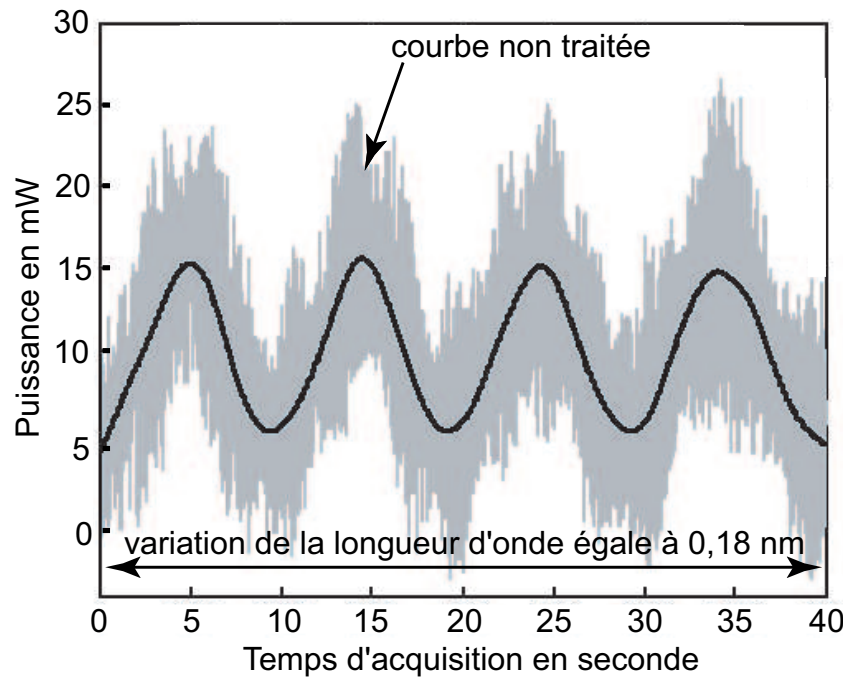


FIG. 3.27 – Fonction de transfert en réflexion de la cavité en fonction de la variation de longueur d'onde.

La courbe obtenue est très bruitée. Cependant après une analyse de ce signal, il s'avère que ce dernier est composé de deux structures différentes : un bruit Gaussien conventionnel et un signal périodique (et qui ne correspond donc pas à un bruit aléatoire). La modulation est imputée au fonctionnement de la boucle de contrôle de la source optique.

Afin de rendre exploitable cette courbe, une solution possible est d'appliquer un lissage de B-spline [85].

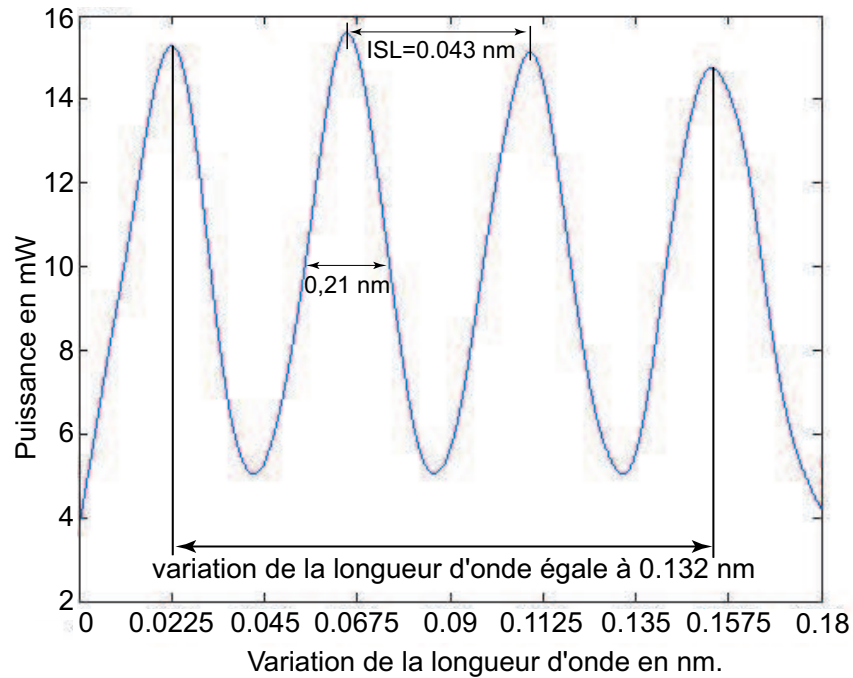


FIG. 3.28 – Fonction de transfert de la cavité après traitement du signal bruité.

Après traitement, nous obtenons (figure 3.28) un interval spectral libre moyen :

$$- \Delta\lambda_{ISL} = 43,2 \cdot 10^{-3} \text{ nm} \pm 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ nm}.$$

Et une largeur à mi-hauteur moyenne :

$$- \Delta\sigma_{1/2} = 21,6 \cdot 10^{-3} \text{ nm} \pm 1,3 \cdot 10^{-3} \text{ nm}.$$

À partir de la mesure de l'intervalle spectral libre nous déterminons la longueur de la cavité.

Nous travaillons en incidence normale, l'intervalle spectral libre de notre cavité s'écrit alors :

$$\Delta\lambda_{ISL} = \frac{\lambda^2}{\delta} \quad (3.9)$$

Où :

$$\delta = 2nl_c$$

Avec $\lambda = 1520 \text{ nm}$ et n l'indice de cœur de la fibre égale à 1,4675.

L'équation 3.9 s'écrit alors :

$$l_c = \frac{\lambda^2}{2n\Delta\lambda_{ISL}} \quad (3.10)$$

Ce qui donne une longueur expérimentale de cavité $l_c = 18,3 \text{ mm} \pm 0,6 \text{ mm}$

Ce résultat est tout à fait satisfaisant et il sera plus approfondi dans la suite de nos travaux, avec une interrogation par modulation de cohérence.

Cette dernière caractérisation expérimentale, nous permet de valider l'étape de réalisation de notre cavité Fabry-Pérot. L'interféromètre réalisé répondant au cahier des charges donné dans le chapitre 2, nous passons à la réalisation de la partie active de notre biocapteur, c'est-à-dire l'ouverture de la fenêtre d'analyse.

3.5 Ouverture de la fenêtre d'analyse

3.5.1 Présentation

La fenêtre d'analyse que nous devons réaliser est la partie active de notre biocapteur. C'est elle qui assure le couplage entre le milieu extérieur et l'onde guidée dans le cœur de notre fibre. Comme nous l'avons expliqué dans le chapitre 2, l'architecture retenue est une variante de celle des capteurs évanescents de types (a) présentés sur la figure 1.9. Dans notre cas, la fibre ne doit pas être complètement dégainée. Pour ce faire, nous devons développer un processus de réalisation qui remplisse cette condition. Deux voies ont été explorées en parallèle :

- une ouverture par attaque chimique ;
- une ouverture par usinage mécanique.

La première idée développée s'inspire des méthodes de gravure classique. Le composé chimique retenu pour cette attaque est l'acide Fluorhydrique (HF). La première étape du processus consiste à protéger la fibre (figure 3.29 (a)), c'est-à-dire réaliser un masque de protection de la cavité excepté au niveau de la future fenêtre d'analyse.

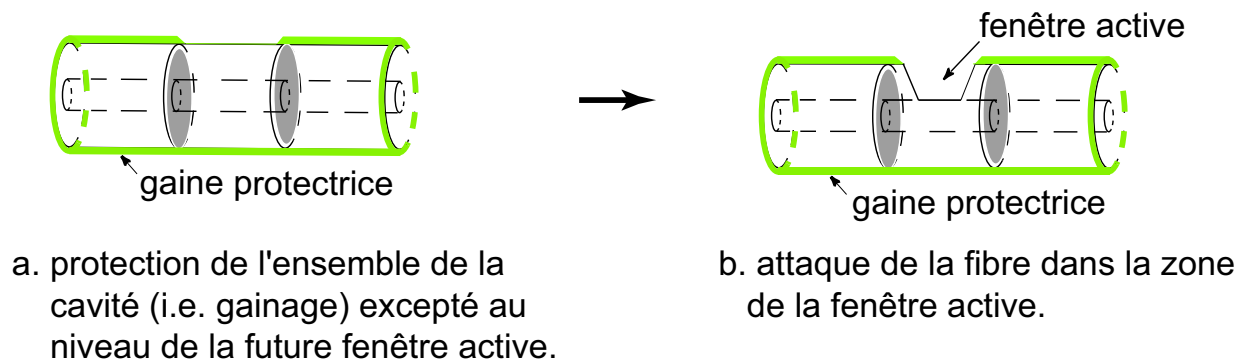


FIG. 3.29 – Réalisation du masque (i.e gainage) de protection.

Le masque réalisé est en cuivre, car ce matériau résiste aux attaques HF. L'ensemble du système est ensuite plongé dans le bain d'acide.

Après différents tests, il s'avère que cette première méthode n'est pas du tout concluante. En effet, du fait d'une sous gravure, l'ensemble de la cavité se trouve attaquée de toutes parts. Nous obtenons alors une fibre amincie et fragilisée (figure 3.30).

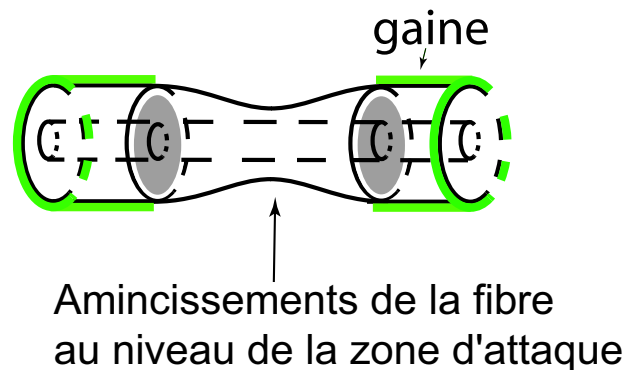


FIG. 3.30 – Schéma de la fibre après attaque chimique.

Dans ces conditions, il est nécessaire de concevoir un masque plus résistant. Le matériau retenu est le teflon. Il peut se présenter sous forme liquide et dans ce cas peut être appliqué sur notre fibre par pulvérisation. Cependant, cette voie a été abandonnée suite aux résultats plus pertinents obtenus par usinage mécanique.

3.5.2 Procédé retenu

3.5.2.1 Description du procédé

Comme précédemment le processus développé s'inspire de ce qui existe déjà et plus particulièrement des techniques classiques de polissage.

Après différents tests expérimentaux et la réalisation de plusieurs prototypes, nous sommes parvenus à définir avec exactitude le cahier des charges du système de polissage.

Les exigences imposées à cet outil sont :

- une précision parfaite au niveau de ses mouvements, c'est-à-dire un jeu quasi-nul dans l'association des différents éléments qui le constituent ;
- une précision d'usinage proche du micron et un processus de polissage parfaitement reproductible ;
- une mise en mouvement des différents éléments mobiles déportée, permettant ainsi de supprimer au maximum les vibrations du système.

Le dispositif retenu est un prototype développé au Laboratoire de Chronométrie Électronique et Piézoélectricité (LCEP) de Besançon. À l'origine cet instrument est dédié à l'usinage de motifs réalisés sur des wafers de Silicium. Après quelques modifications, ce système (figure 3.31) répond à nos attentes.

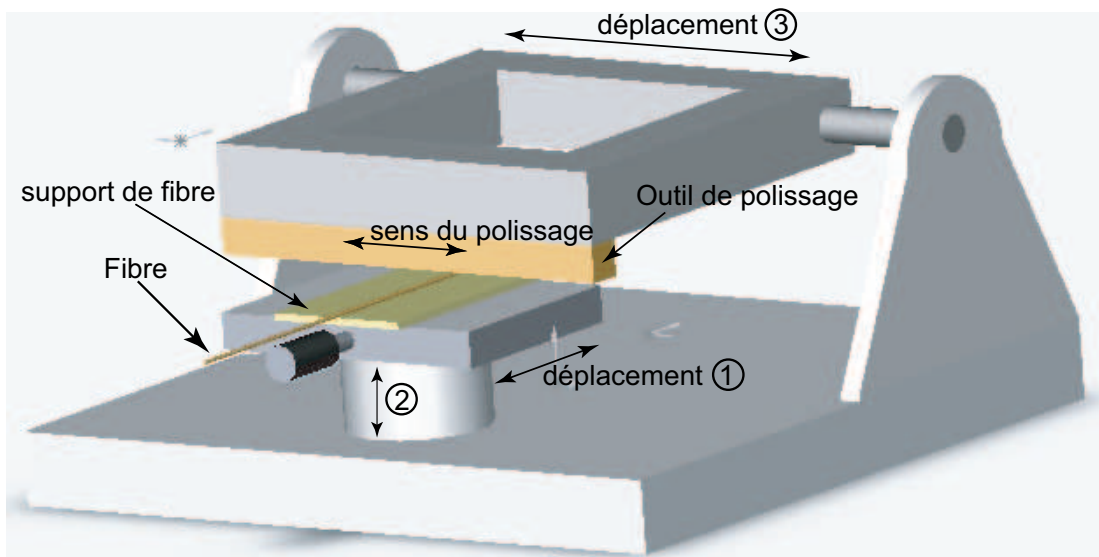


FIG. 3.31 – Schéma simplifié de la machine à polir.

Avant de débiter toute opération, la fibre est collée sur un support plan. L'ensemble fibre + support est alors mis en position par déplacement des éléments mobiles 1 et 2 (figure 3.31).

L'ouverture de la fenêtre se fait à l'aide d'un abrasif. Ce dernier est déposé sur le support entre la fibre et l'outil d'usinage.

L'outil est ensuite mis en mouvement (déplacement 3), et c'est ce mouvement de va-et-vient combiné à l'abrasif qui usine la fibre optique entre les deux miroirs.

L'usinage de la fibre se fait en deux parties :

- le rodage (ou dégrossissage) : enlèvement grossier de matière ;
- le polissage (ou doussissage) : amélioration de l'état de surface jusqu'à l'obtention d'une surface polie miroir.

L'abrasif est l'élément de consommation essentiel à l'obtention des caractéristiques d'usinage de la fibre. En effet, la rugosité de la surface est directement liée à la nature et à la granulométrie de l'abrasif choisi. De plus, il est important d'utiliser ces abrasifs dans un milieu chimique (un liant), liquide ou pâteux, pour garder les particules abrasives libres.

Un autre élément essentiel est l'outil d'usinage. La géométrie (forme, dimensions, planéité..) de la surface est directement induite par la géométrie de l'outil.

Dans notre cas, l'outil est un barreau dont la largeur est égale à 1 cm. C'est cette largeur qui définit la largeur de la fenêtre sensible du capteur. On aperçoit dès lors le caractère générique de la méthode, en changeant la forme et la dimension de l'outil nous obtenons un autre type de fenêtre.

3.5.2.2 Réalisation de la fenêtre d'analyse

Les premiers tests entrepris sont effectués avec deux types d'abrasif standard :

| | Rodage | Polissage |
|----------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| a. oxyde d'aluminium | tailles des grains $\sim 6 \mu m$ | tailles des grains $\sim 4 \mu m$ |
| b. liquide diamant | tailles des grains $\sim 3 \mu m$ | tailles des grains $\sim 1 \mu m$ |

Après différents tests, il s'avère que le plan d'expérience qui répond le mieux à nos attentes est le suivant. Ce process est inspiré du principe d'usinage des connecteurs optiques.

L'ouverture de la fenêtre s'effectue alors en quatre étapes :

1. un premier rodage avec un grain d'oxyde d'aluminium dont la taille est d'environ $6 \mu m$;
2. un second rodage plus fin, grain d'oxyde d'aluminium $\sim 4 \mu m$;

3. un premier polissage avec un liquide diamant dont la taille des grains est de $3\ \mu\text{m}$;
4. un polissage plus fin avec un liquide diamant dont la taille des grains est de $1\ \mu\text{m}$.

Pour chaque type d'abrasif, un étalonnage de la profondeur d'usinage en fonction du nombre d'aller-retour de l'outil est effectué. Nous avons donc accès à tout moment du processus à la quantité de matière supprimée et donc à la profondeur d'ouverture de la fenêtre d'analyse. Un contrôle en temps réel de la puissance lumineuse transmise, nous permet en plus d'affiner ces observations.

La combinaison de ces deux procédés de contrôle nous donne une précision d'usinage égale à $1\ \mu\text{m}$, c'est-à-dire à la taille du grain le plus fin utilisé en dernier lieu.

Les premiers tests sont entrepris, sur une fibre "nue", par l'ouverture d'une fenêtre d'analyse dont les dimensions théoriques sont les suivantes : profondeur d'usinage égale à $62,5\ \mu\text{m}$, largeur de la fenêtre égale à $125\ \mu\text{m}$, et longueur de la fenêtre égale à $10\ \text{mm}$.

Les deux premières valeurs théoriques seront comparées aux mesures expérimentales réalisées au microscope électronique à balayage (MEB) (figure 3.32).

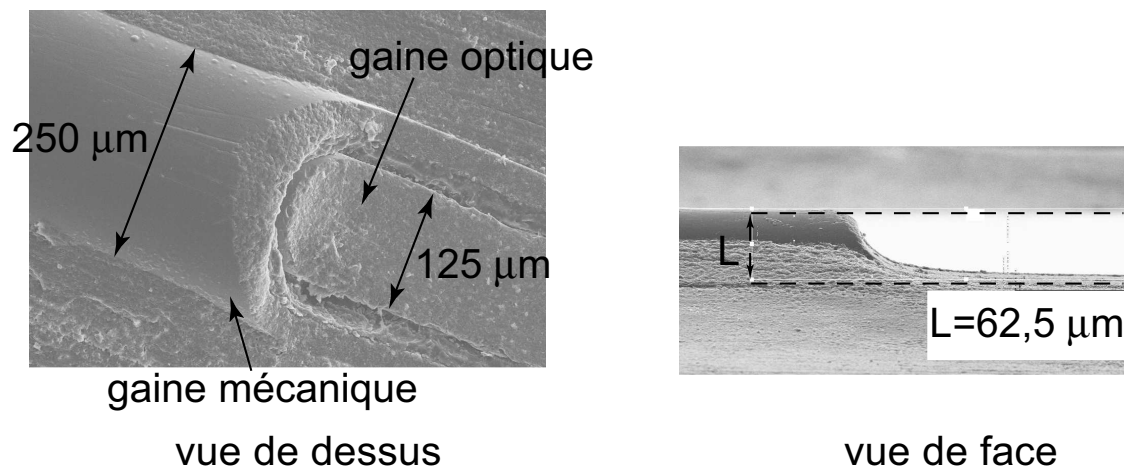


FIG. 3.32 – Images obtenues au MEB de la fenêtre d'analyse.

Nous obtenons donc une profondeur expérimentale de la fenêtre d'analyse égale à $125\ \mu\text{m}$, soit une profondeur de $62,5\ \mu\text{m}$ dans la fibre seule (i.e. sans la gaine mécanique). De plus la largeur expérimentale est quant à elle égale à $125\ \mu\text{m}$.

Ces résultats sont en parfait accord avec les résultats théoriques énoncés précédemment. Ils permettent ainsi de valider notre processus d'usinage des fibres.

En outre, le contrôle en temps réel de la lumière transmise (figure 3.33) permet dans un premier temps de mettre en évidence la reproductibilité de notre système quelle que soit la nature de l'abrasif utilisé. En second lieu, ce contrôle nous offre aussi la possibilité d'observer l'évolution par palier de la puissance transmise au cours du processus. Cette dernière reste tout d'abord quasi constante jusqu'à l'attaque du cœur de la fibre. Puis elle subit une chute linéaire relativement importante, pour être enfin totalement nulle à la profondeur d'usinage $L=64.5 \mu\text{m}$, c'est-à-dire $2\mu\text{m}$ en dessous du centre du cœur de la fibre.

À partir de ces différentes observations, nous devons donc trouver un compromis entre la sensibilité de notre biocapteur, sensibilité liée à la profondeur d'usinage, et la quantité de lumière transmise.

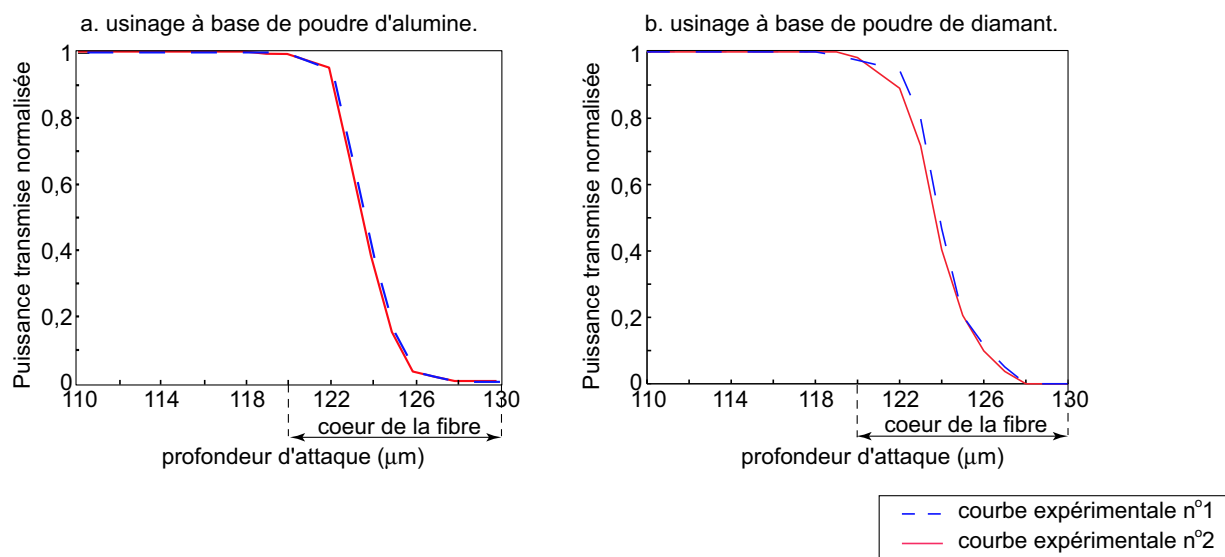


FIG. 3.33 – Evolution de la puissance transmise par la fibre au cours du processus d'usinage.

Un des derniers éléments à contrôler est l'état de surface de notre fenêtre d'analyse. Pour ce faire, des mesures sont effectuées au profilomètre optique. La figure 3.34 représente une partie de la surface (l'ensemble des autres parties étant similaires, elles ne seront pas représentées dans ce manuscrit).

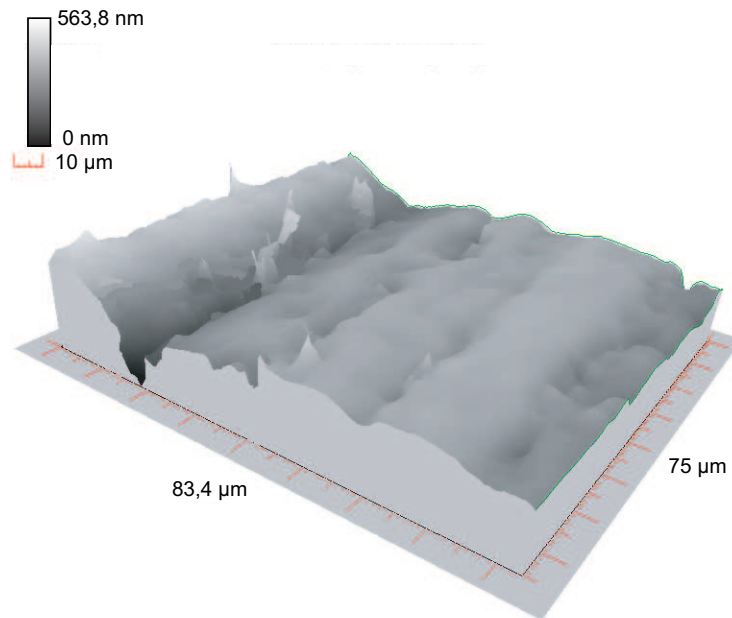


FIG. 3.34 – Image profilométrique de la surface polie.

La surface obtenue présente donc des défauts de rugosité pic à pic d'environ $0,5 \mu\text{m}$, c'est-à-dire une rugosité égale à $\lambda/2,3$. Cette surface est obtenue avec un abrasif diamant dont la taille des grains est d'environ $1 \mu\text{m}$. N'ayant a priori aucune idée de l'état de surface nécessaire au bon fonctionnement du biocapteur (l'étude théorique de la diffusion et diffraction n'ayant pas été commencée), nous définirons cet état au moment de la validation expérimentale du biocapteur. Il faut cependant garder à l'esprit que notre biocapteur travaille en milieu liquide, ce qui diminue le niveau de ces pertes.

En outre, la rugosité de la surface peut être diminuée en intégrant une étape supplémentaire lors du polissage. L'étape finale sera alors entreprise avec comme abrasif un oxyde de cérium ou de la silice colloïdale (grains de 30 à 50 nm), l'outil d'usinage sera recouvert de feutrine ou de mousse de polyuréthane. Dans ces conditions, la rugosité maximale de la surface devrait être égale à 50 nm soit environ $\lambda/26$, nous affranchissant ainsi des problèmes de diffusion et de diffraction.

Il faut également noter que la qualité de parallélisme de la surface est directement liée au nombre de pièces à polir et donc à la surface totale en contact avec l'outil d'usinage. Afin de garantir un parallélisme optimal, nous usinons plusieurs fibres en même temps (figure 3.35). Ce principe offre par là même une réalisation en série des fenêtres d'analyses.

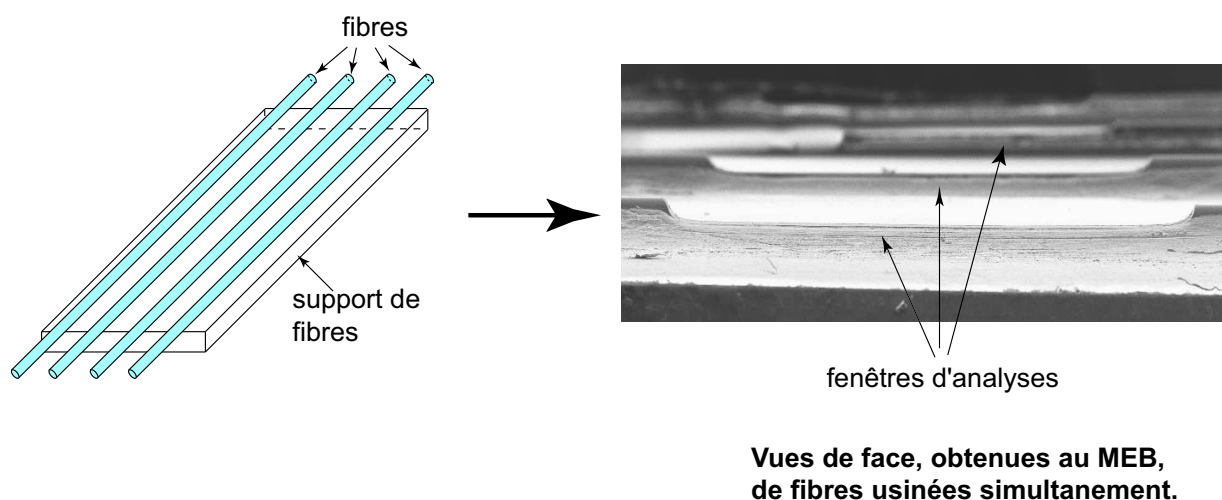


FIG. 3.35 – Usinage série de plusieurs fibres

3.5.3 Conclusion

A partir du processus développé, basé sur un usinage mécanique, nous réalisons des fenêtres d'analyses. Nous sommes capables d'usiner des fibres optiques avec une précision sur la profondeur d'attaque égale au μm .

La maîtrise ainsi que la grande reproductibilité du processus, font du système développé l'outil idéal pour nos travaux.

Il nous reste cependant à affiner la dernière étape de polissage afin d'obtenir un état de surface optimale, c'est-à-dire une rugosité minimale. Pour ce faire quelques améliorations sont à apporter sur l'outil.

Toutefois, les résultats actuels nous permettent de poursuivre nos travaux, et de finaliser la réalisation du biocapteur avec la fonctionnalisation des fenêtres d'analyses.

3.6 Fonctionnalisation du biocapteur et détection de substances chimiques

Comme nous l'avons vu précédemment (chapitre 1), un biocapteur est un dispositif analytique qui intègre un élément biologique sur une surface fonctionnalisée appelée biorécepteur (ou sonde), rendant possible une interaction biospécifique avec une cible (ou analyte), mesurée *via* un transducteur de signal.

La partie transduction de notre biocapteur étant achevée, nous présenterons dans cette dernière partie la fonctionnalisation de celui-ci.

Nous exposerons tout d'abord les espèces chimiques retenues pour fonctionnaliser notre fenêtre active. Puis, nous présenterons la technique de dépôt relative à ces différents éléments. Nous terminerons cette partie par une caractérisation des propriétés optiques des monocouches auto-assemblées greffées sur un support plan.

3.6.1 Choix des espèces chimiques et biologiques

3.6.1.1 Présentation

L'assemblage biologique visé est du type biotine-avidine. Ce système a été très largement étudié dans la littérature [86]-[87], car l'Avidine se lie à la biotine avec une des plus fortes affinités connues en biologie (constante de dissociation $K_d \sim 10^{-15} \text{ M}$) [88].

Cette caractéristique en fait un couple modèle utilisé dans la plupart des principes démonstratifs des nouveaux biocapteurs [89]-[90]. Cet assemblage biologique est généralement associé à des fragments d'ADN, de protéines ou des enzymes.

Pour notre étude, nous utilisons la biotine comme biorécepteur et l'avidine comme cible. Dans ce cas de figure, la sensibilité et la sélectivité du biocapteur au niveau des molécules en présence est assurée, nous permettant ainsi d'éprouver notre système.

3.6.1.2 La biotine

La biotine, ou vitamine H ou B8, est une vitamine hydrosoluble constituée d'un noyau **imidazoline** et d'un cycle tétrahydrothiophène porteur d'une chaîne latérale à cinq atomes de carbone (figure 3.36). Elle existe sous forme libre ou sous forme de groupement prosthétique (**coenzyme**) liée à certaines **carboxylases** qui catalysent des réactions de synthèse des acides gras ou de certains acides aminés.

La biotine est très favorable à la formation de monocouches auto-assemblées.

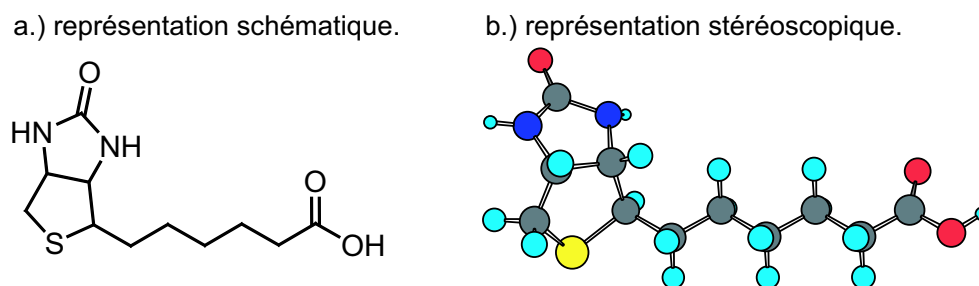


FIG. 3.36 – Représentation schématique et stéréoscopique de la molécule de biotine.

3.6.1.3 L'avidine

Sur le plan de la structure, les protéines sont les molécules connues les plus complexes. Tout comme leurs fonctions, leur structure varie considérablement. Bien qu'elles soient très diversifiées, les protéines sont des polymères élaborés à partir des mêmes constituants, les acides aminés.

L'avidine est une **glycoprotéine** que nous trouvons dans le blanc d'œuf cru. Elle est constituée de quatre poches de liaison biotine positionnées par paires sur les faces opposées de la protéine, ce qui lui confère une structure tétramérique. Chaque monomère est constitué d'une chaîne de 128 acides aminés. Comme nous l'avons déjà signalé ci-dessus, elle possède une affinité particulièrement forte pour la biotine, pour laquelle la constante de dissociation est de trois ordres de grandeur supérieure aux constantes rencontrées habituellement en reconnaissance moléculaire.

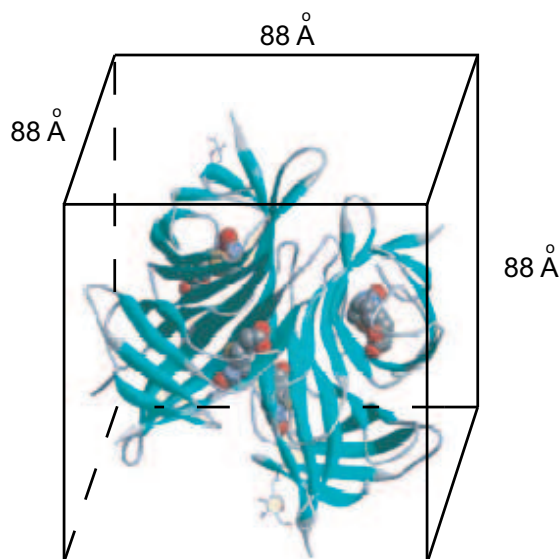


FIG. 3.37 – Structure tétramérique de l'avidine [?]

3.6.2 Techniques de dépôt

La démarche suivie au cours de nos expériences comprend trois étapes. La première consiste en la préparation du substrat, ici de la silice. La seconde repose sur la formation de la monocouche bioréceptrice. La dernière étape consiste à exposer cette monocouche bioréceptrice à une solution de molécules cibles.

• Préparation du substrat

La sonde de notre biocapteur est réalisée sur une fibre optique, ce qui implique la réalisation d'une monocouche auto-assemblée sur de la silice.

La préparation du substrat s'effectue en deux phases. La première consiste à le nettoyer. Pour ce faire, l'échantillon est préalablement passé dans un bain à ultra-sons (solvant chloroforme). Cette première étape permet un dégraissage optimal de la silice. Le substrat est ensuite plongé dans un bain de piranha chaud. L'échantillon est alors laissé 35 à 40 minutes dans le bain.

Lors de cette première réaction, nous créons une liaison OH utilisée lors de la fonctionnalisation avec l'organosilane choisi.

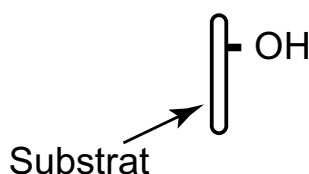


FIG. 3.38 – Préparation du substrat par hydroxylation d'une plaquette de silice.

La seconde phase consiste à greffer le silane fonctionnalisé sur l'échantillon.

Pour ce faire, l'échantillon est plongé dans une solution composée d'eau et d'aminopropyl diisopropyl silane. Ce substrat fixera alors la biotine via sa terminaison amine (figure 3.39).

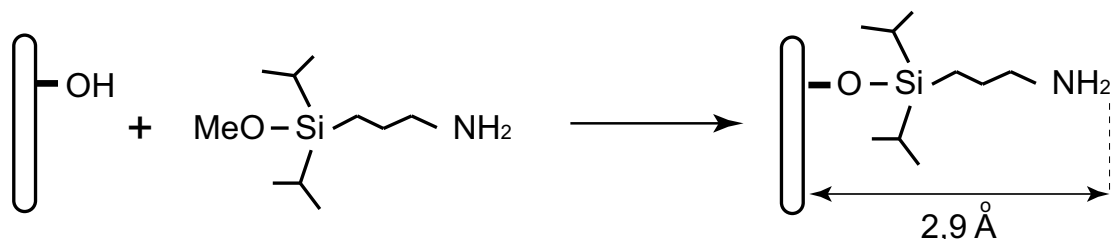


FIG. 3.39 – Fixation du silane fonctionnalisé.

• Fixation de la biotine

Pour la réalisation de la couche bioréceptrice, nous utilisons de la biotine modifiée (figure 3.40).

La raison de l'utilisation de cette biotine réside dans la nécessité d'avoir un groupement "espaceur" permettant d'éloigner au maximum la biotine du substrat afin de diminuer la gêne stérique entre ces groupements et de capturer ainsi une quantité maximale d'avidine.

Nous utilisons lors de la synthèse, une molécule dont l'espaceur possède un groupement N-hydroxysuccimide (-NHS) car ce dernier est très réactif vis-à-vis des amines. Nous aurons alors un taux de couplage optimal avec le substrat qui a été préalablement traité avec un aminopropyl silane. Si nous avions utilisé directement la biotine, la réaction aurait un rendement très faible et donc un taux de greffage très bas.

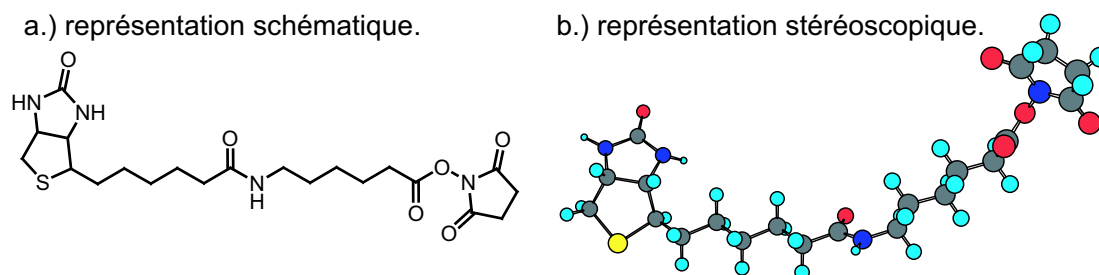


FIG. 3.40 – Représentation schématique et stéréoscopique de la molécule de biotine-NHS.

L'échantillon est plongé dans une solution tampon de phosphate salée (Phosphate Buffer Saline PBS). Puis nous introduisons de la biotine modifiée (figure 3.41). L'échantillon est laissé en solution pendant environ 6 heures.

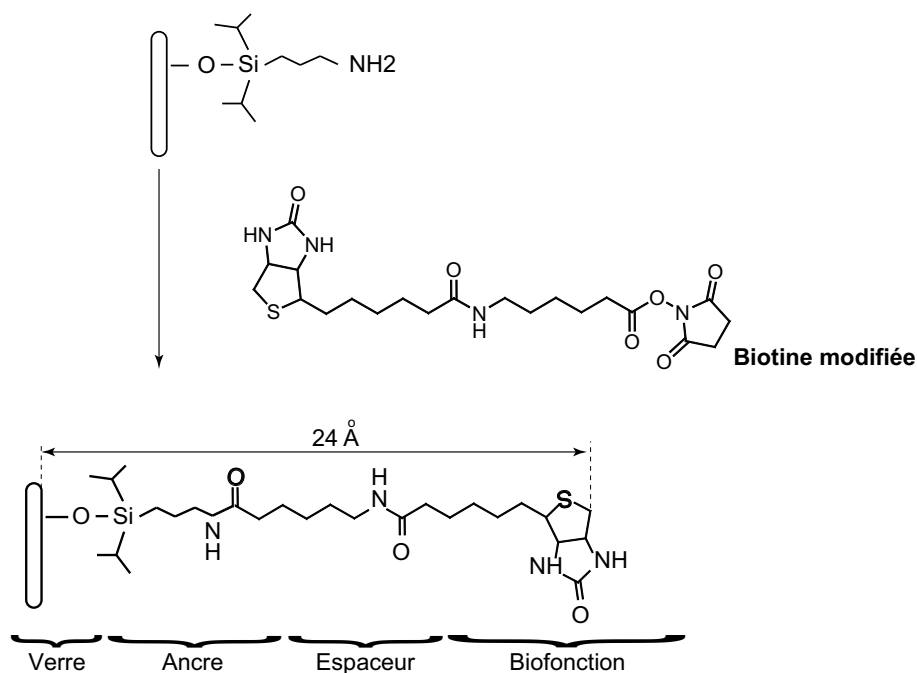


FIG. 3.41 – Dépôt de la sonde.

• Capture de l'avidine

L'échantillon précédemment fonctionnalisé par la biotine est de nouveau plongé dans une solution de PBS. Nous introduisons ensuite les cibles, dans notre cas l'avidine. La fonctionnalisation du biocapteur par l'avidine dépendra de la concentration de celle-ci et du temps passé par l'échantillon dans la solution.

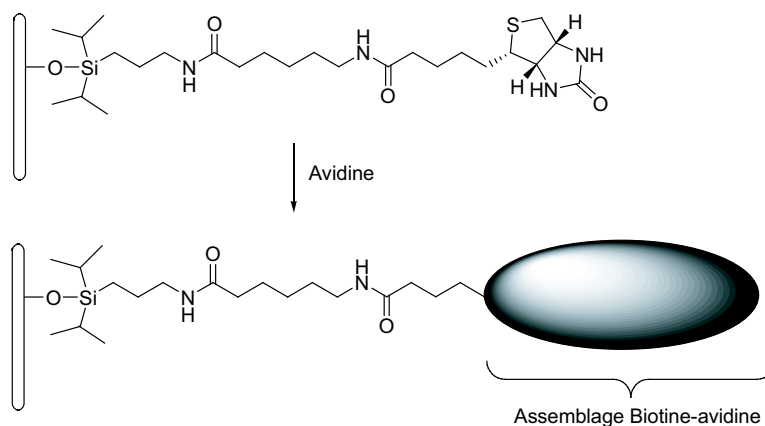


FIG. 3.42 – Capture des cibles.

3.6.3 Caractérisation des propriétés optiques

3.6.3.1 Étude expérimentale : test massif par ellipsométrie

Dans l'objectif de simuler les états de notre capteur et ainsi de déterminer les limites de celui-ci, la connaissance des propriétés optiques des couches déposées est indispensable. C'est pourquoi nous avons entrepris une étude ellipsométrique sur les différentes couches développées sur un substrat de silicium.

L'étude s'est effectuée en deux parties :

- nous avons tout d'abord mesuré l'épaisseur ainsi que l'indice optique de la monocouche de biotine. Cette mesure d'épaisseur tient compte du silane fonctionnalisé (figure 3.41). Elle est effectuée en milieu sec.
- la seconde étape est une mesure similaire effectuée sur l'avidine. Afin d'éviter de dénaturer la protéine d'avidine, la mesure est faite en milieu liquide.
L'avidine est introduite en quantité suffisante dans le but d'obtenir un "tapis" complet d'assemblage biotine/avidine sur toute la surface fonctionnalisée, c'est-à-dire une saturation de la couche.

Avant de présenter les résultats relatifs à cette étude, il nous semble judicieux d'effectuer un rappel succinct de l'ellipsométrie spectroscopique.

3.6.3.2 Rappel sur l'ellipsométrie

L'ellipsométrie est une méthode d'analyse optique basée sur le changement d'état de polarisation de la lumière lors de la réflexion sur une surface plane.

Nous envoyons sur un échantillon une onde lumineuse polarisée rectilignement, après réflexion la vibration devient elliptique (figure 3.43).

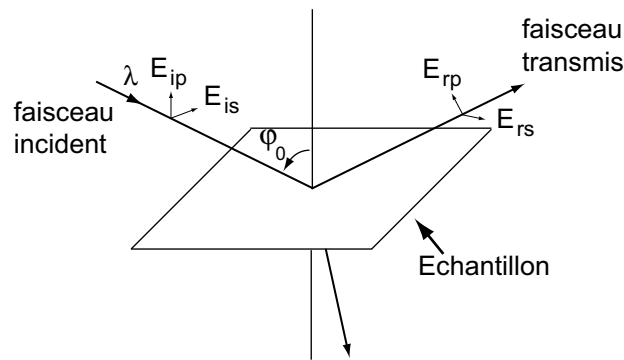


FIG. 3.43 – Réflexion sur un échantillon d'une onde lumineuse polarisée rectilignement.

L'ellipsométrie consiste à analyser après interaction avec l'échantillon l'amplitude et la phase du rapport des coefficients de Fresnel de la composante du champ électrique parallèle et perpendiculaire au plan d'incidence, selon la formule :

$$\rho = \frac{r_p}{r_s} = \tan \psi \cdot e^{i\Delta} \quad (3.11)$$

A partir de la mesure de ce rapport ρ , la pseudo-fonction de l'indice complexe de l'échantillon définie par la formule ci-dessous est déduite :

$$(n + ik)^2 = \epsilon_0 \sin^2 \varphi_0 \left[1 + \tan^2 \varphi_0 \cdot \frac{(1 - \rho)^2}{(1 + \rho)^2} \right] \quad (3.12)$$

Dans le cadre de l'ellipsométrie à modulation (méthode retenue pour notre étude), les angles ellipsométriques (ψ et Δ) sont déterminés à partir des grandeurs ellipsométriques I_s et I_c qui sont données par :

$$\begin{aligned} I_s &= \sin 2\psi \cdot \sin \Delta \\ I_c &= \sin 2\psi \cdot \cos \Delta \end{aligned} \quad (3.13)$$

L'ellipsométrie est une méthode indirecte, elle ne donne pas accès directement à des paramètres physiques de l'échantillon. Il est nécessaire d'utiliser un modèle pour décrire la réponse ellipsométrique d'un échantillon c'est-à-dire pour calculer les coefficients de réflexion r_p et r_s et retrouver ainsi les angles ψ et Δ mesurés.

Il existe deux grandes méthodes de mesure ellipsométrique : l'ellipsométrie à extinction et l'ellipsométrie à modulation. C'est cette dernière méthode de mesure qui sera retenue pour notre étude.

L'ellipsométrie à modulation (figure 3.44) présente l'avantage de combiner vitesse et précision des mesures pour tous types d'échantillons.

L'un des composants (polariseur, analyseur, compensateur) est en rotation. La détection se fait à la fréquence de modulation par analyse numérique (en général transformée de Fourier ou assimilé) du signal détecté.

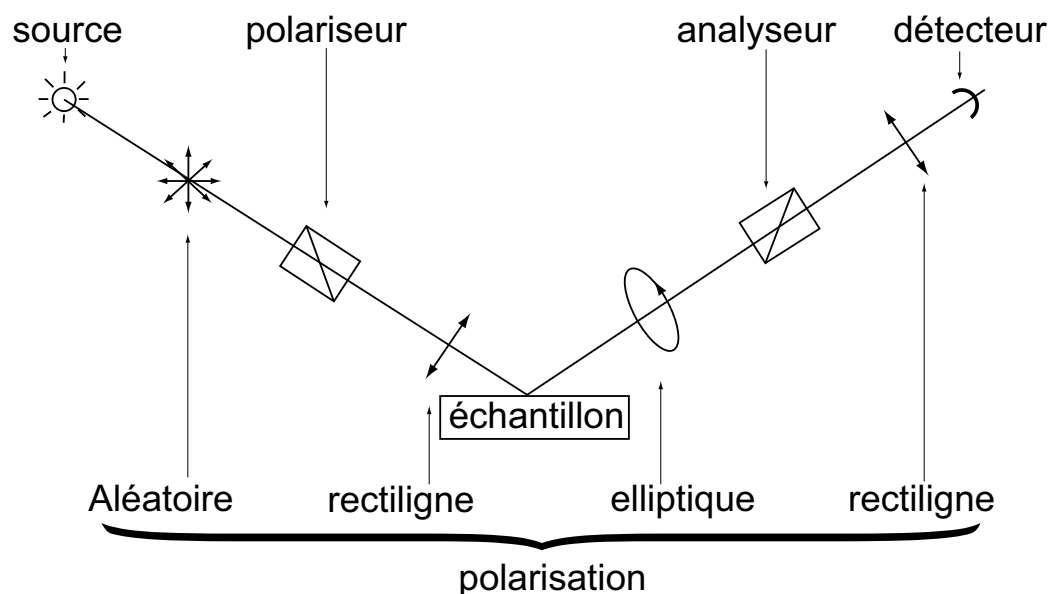


FIG. 3.44 – Principe de l'ellipsométrie à modulation.

3.6.3.3 Mesures ellipsométriques

Les mesures ellipsométriques entreprises sont réalisées sur des monocouches autoassemblées développées sur une surface de silicium.

Ces tests sont réalisés en collaboration avec deux industriels (Jobin-Yvon et Sopra). Les échantillons tests sont analysés tour à tour par ces partenaires.

• Mesures de Jobin-Yvon

L'ellipsomètre UVIL HR est utilisé pour la mesure de ces échantillons. Sa gamme spectrale est 261nm-1700 nm. Les conditions de mesures des échantillons sont les suivantes :

- angles d'incidences : $75^\circ/70^\circ$
- diamètre du faisceau : 1 mm
- temps d'intégration : 200 ms

-Échantillon de biotine

La mesure est effectuée sur la gamme 261nm-1700nm. La courbe retenue pour l'indice est présentée sur la figure 3.45.

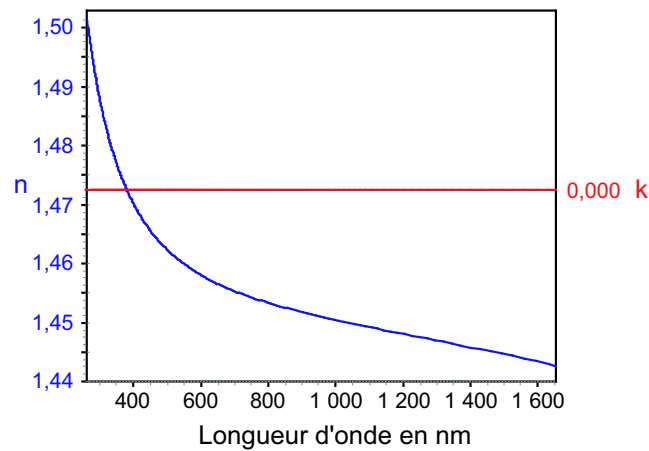


FIG. 3.45 – Variation de l'indice optique de la biotine en fonction de la longueur d'onde.

Pour la longueur d'onde $\lambda = 1,31 \mu\text{m}$, nous obtenons un indice de la biotine $n = 1,446$. La monocouche est alors considérée comme ici non absorbante ($k=0$).

Les épaisseurs de biotine mesurées sont alors égales :

| | échantillon 1 | échantillon 2 | échantillon 3 | échantillon 4 |
|-----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| épaisseur en nm | 2,2 | 2,4 | 3,8 | 4,0 |

Soit une épaisseur moyenne égale à : $3,1 \text{ nm} \pm 0,9 \text{ nm}$

-Échantillon de biotine/avidine

Cette mesure est effectuée sur la gamme 261nm-1126nm. Sur une partie de la gamme infrarouge, la mesure n'est pas satisfaisante. Elle est entachée d'un bruit trop important dû à un flux trop faible.

Le modèle retenu, donnant la variation d'indice de l'avidine en fonction de la longueur d'onde, est le même que le modèle retenu précédemment pour la biotine (figure 3.45). C'est-à-dire un indice de la biocouche égal à 1,446.

Les épaisseurs d'avidine mesurées sont alors égales :

| | échantillon 1 | échantillon 2 | échantillon 3 | échantillon 4 |
|-----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| épaisseur en nm | 8,6 | 9 | 6.6 | 7 |

Soit une épaisseur moyenne égale à : $7,8 \text{ nm} \pm 1,2 \text{ nm}$

• Mesures de Sopra

L'ellipsomètre GES5 est utilisé pour la mesure de ces échantillons. Sa gamme de spectrale est 210nm-2050 nm.

Dans ce cas, l'étude n'a pu être entreprise que pour la biotine et seulement sur les échantillons 3 et 4.

-Échantillon de biotine

La mesure est effectuée sur la gamme 210nm-800nm. La courbe retenue pour l'indice est présentée sur la figure 3.46.

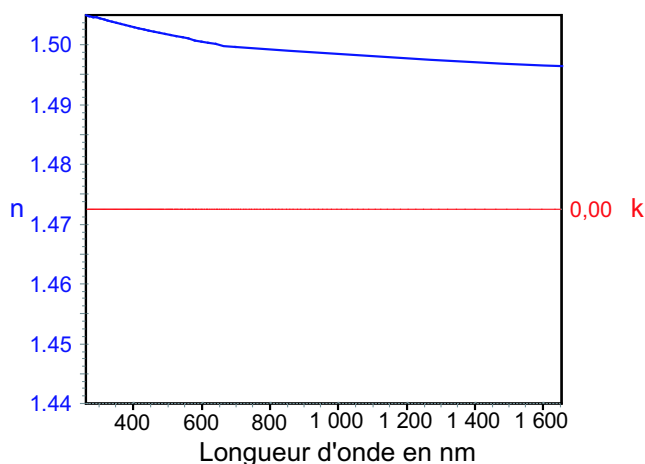


FIG. 3.46 – Variation de l'indice optique de la biotine en fonction de la longueur d'onde.

Pour la longueur d'onde $\lambda = 1,31 \mu\text{m}$, nous obtenons un indice de la biotine $n = 1,497$. Comme

précédemment la monocouche est considérée comme non absorbante ($k=0$).

Les épaisseurs de biotine mesurées sont alors égales :

| | échantillon 3 | échantillon 4 |
|-----------------|---------------|---------------|
| épaisseur en nm | 7,5 | 7 |

Soit une épaisseur moyenne égale à : $7,25 \text{ nm} \pm 0,25 \text{ nm}$

Nous observons une grande disparité entre les différents résultats obtenus.

Les mesures faites par Jobin-Yvon sont entachées d'une incertitude relativement importante. De plus, le modèle de représentation des variations d'indice en fonction de la longueur d'onde est le même pour les monocouches de biotine et d'avidine.

Nous notons aussi que pour la mesure des échantillons 3 et 4 de biotine, les mesures données par les deux partenaires varient du simple au double.

La seconde campagne de mesure effectuée par la Sopra n'a pu être réalisée que sur deux échantillons de biotine. Ces résultats sont ceux qui sont les plus éloignés des épaisseurs classiquement admises dans les études théoriques.

Ces épaisseurs théoriques données sont les suivantes :

- épaisseur de la monocouche de biotine : 2,4 nm ;
- épaisseur de la monocouche d'avidine : 8,8 nm.

Finalement, les mesures réalisées par Jobin-Yvon sont très proches de ces valeurs théoriques. Cependant force est de constater que les mesures par ellipsométrie ne sont pas spécialement adaptées à nos travaux puisque nous sommes très proches des limites de détection de cette méthode. En effet, les monocouches autoassemblées sont considérées comme des couches minces (i.e. épaisseur de quelques couches atomiques à quelques μm). Or il s'avère que dans ce cas la détermination d'indice et d'épaisseur de ces couches se révèle extrêmement complexe. En effet, les tables d'indices données dans la littérature sont réalisées à partir de matériaux massifs. Or, il existe une très grande différence entre ces tables et les indices des couches minces qui dépendent énormément des méthodes de préparation et de l'état physique de ces couches.

Pour rendre plus complète cette étude, nous avons complété nos travaux par la mesure de l'absorption de la biotine. Il est effectivement important de noter que les mesures effectuées par

les industriels ne tiennent pas compte de l'absorption ($k=0$) des différents éléments constituant nos monocouches autoassemblées. Il nous a alors semblé important de vérifier cette hypothèse. Pour ce faire, nous effectuons une mesure d'absorbance de la biotine en solution à différentes concentrations.

Il est très difficile de relier la concentration volumique à la densité de surface des monocouches autoassemblées (par exemple, il faudrait faire pour cela une étude dynamique lors de l'élaboration de la monocouche). De ce fait, l'étude des spectres ne sera pas quantitative mais qualitative, ils nous indiqueront si dans le domaine des longueurs d'ondes choisi, l'hypothèse $k=0$ faite par les industriels est justifiée ou non.

La mesure est effectuée sur la gamme 200 nm-1320 nm. Cependant, nous ne représentons qu'une partie du spectre (figure 3.47).

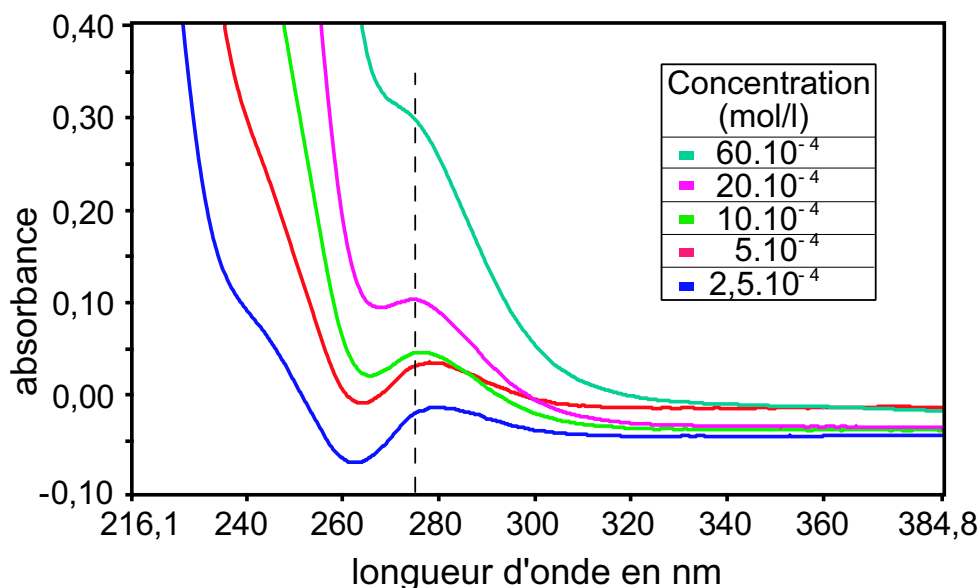


FIG. 3.47 – Spectre d'absorption de la biotine en solution.

Entre 200 nm et 1320 nm, une seule bande d'absorption apparaît. Cette bande est centrée sur 275 nm.

En dessous de 260 nm et au dessus de 360 nm, nous retrouvons les bandes qui sont liées aux cuves utilisées pour les mesures, il faut donc les négliger. Par ailleurs, nous remarquons sur les spectres des courbes qui se coupent. Ceci est lié à un problème de ligne de base lors de la mesure, ce dernier a été corrigé pour déterminer les absorbances en fixant l'absorbance arbitrai-

rement à zéro pour la longueur d'onde 360 nm. Ces valeurs sont données à titre indicatif dans le tableau suivant :

| Concentration en mol/l | absorbance à 275 nm | coeff d'extinction molaire (cm ² /mol) |
|------------------------|---------------------|---|
| 60.10^{-4} | 0,309 | $5,1.10^4$ |
| 20.10^{-4} | 0,136 | $6,8.10^4$ |
| 10.10^{-4} | 0,083 | $8,3.10^4$ |
| 5.10^{-4} | 0,049 | $9,8.10^4$ |
| $2,5.10^{-4}$ | 0,031 | $12,4.10^4$ |
| | | Moyenne : $8,5.10^4$ |

Au vu de ces résultats, nous pouvons considérer que l'absorption de la biotine n'est pas nulle, et que cette dernière est bien présente dans les échantillons étudiés pour une longueur d'onde $\lambda < 320$ nm.

Néanmoins la présence d'absorption nous renforce dans l'idée de développer une méthode de traitement des données ellipsométriques qui permette de s'affranchir des modèles standard utilisés pour l'indice optique de la couche mince à étudier.

C'est dans ce but que nous avons cherché à développer une méthode de détermination de l'indice complexe optique à partir des données ellipsométriques, sans se fixer d'a priori. Nous nous sommes limités, pour des raisons que nous évoquerons plus loin, aux données concernant la monocouche de biotine fournies par Jobin-Yvon.

Le problème fondamental de l'ellipsométrie est le suivant : la caractérisation complète d'une monocouche est obtenue dès lors que les trois grandeurs suivantes sont connues :

- l'épaisseur e de la monocouche
- la partie réelle n_R de son indice optique
- la partie imaginaire n_I de son indice optique

Malheureusement, les mesures ellipsométriques ne fournissent qu'un couple de deux grandeurs (ψ, Δ) ou (I_c, I_s). Il reste donc une inconnue qui est habituellement déterminée à l'aide de modèles plus ou moins complexes, c'est-à-dire en se fixant arbitrairement une loi (e.g. loi de Cauchy pour l'indice réel et annulation de sa partie imaginaire, ...) reliant deux des variables e , n_R et n_I .

Nous sommes donc en présence d'un problème mathématique simple : résoudre un sys-

tème de deux équations à trois inconnues. Même si mathématiquement ce problème présente une infinité de solutions, il n'en reste pas moins qu'elles restent dans notre cas contingentes par les lois de la physique (e.g. relations de Kramers-Krönig). Nous avons donc potentiellement des méthodes postérieures à leur détermination pour savoir si oui ou non une solution est physiquement acceptable (on peut également et plus simplement se dire que le domaine de variation des indices optiques ne peut s'étendre au-delà de certaines valeurs habituellement rencontrées).

C'est dans cette optique que nous avons cherché à répertorier toutes les solutions (à savoir les valeurs d'un trinôme e, n_R, n_I) mathématiquement justes qui vérifiaient les données expérimentales. Techniquement parlant, il s'agit de calculer les grandeurs théoriques I_c et I_s pour les différents paramètres e, n_R, n_I , ces derniers variant indépendamment l'un de l'autre dans des bornes raisonnablement "acceptables". Dans notre cas nous avons fait varier :

- l'épaisseur de biotine de 1 nm à 3,5 nm par pas de 0,05 nm
- l'indice réel entre 0 et 5
- l'indice imaginaire entre -0,5 et 5

La donnée de ces trois grandeurs permet facilement de calculer le nombre $\rho = \tan \psi e^{i\Delta}$. En effet, ce nombre s'écrit sous la forme suivante :

$$\rho = \frac{r_p}{r_s} = \frac{r^{TM}}{r^{TE}} = \frac{(r_{12}^{TM} + r_{23}^{TM} e^{2i\beta}) / (1 + r_{12}^{TM} \cdot r_{23}^{TM} e^{2i\beta})}{(r_{12}^{TE} + r_{23}^{TE} e^{2i\beta}) / (1 + r_{12}^{TE} \cdot r_{23}^{TE} e^{2i\beta})} \quad (3.14)$$

(les notations sont les mêmes que celles adoptées tout au long de ce manuscrit)

De là, l'expression des grandeurs I_c et I_s s'estime aisément puisque :

$$I_c = \frac{2\Re(\rho)}{1 + |\rho|^2} \quad (3.15)$$

$$I_s = \frac{2\Im(\rho)}{1 + |\rho|^2} \quad (3.16)$$

Finalement, tous les trinômes des grandeurs (e, n_R, n_I) permettant d'avoir $I_s^{\text{théorique}} = I_s^{\text{expérimental}}$ et $I_c^{\text{théorique}} = I_c^{\text{expérimental}}$ seront conservés. Ce type de calcul est effectué pour les différentes longueurs d'ondes et les différents angles d'incidence utilisés au cours des expériences.

Les résultats de ces calculs font apparaître plusieurs faits :

- Il existe effectivement différents trinômes (e, n_R, n_I) vérifiant les données expérimentales en notre possession.
- nous pouvons classer ces différents trinômes dans des ensembles particuliers, chaque ensemble représentant une variation continue de n_R et n_I en fonction de la longueur d'onde et de l'épaisseur.

Dans notre cas trois ensembles de trinômes ont été identifiés dans les plages de variations des paramètres précédemment cités. L'analyse d'un de ces trois groupes de valeurs montre clairement que les variations des parties réelles et imaginaires de l'indice optique de la monocouche en fonction de la longueur d'onde sont proportionnelles à celles du substrat, c'est-à-dire dans notre cas au silicium. Ce comportement traduit le fait que nous n'avons pas eu accès aux données ellipsométriques permettant de déterminer expérimentalement l'indice complexe du substrat de silicium, nos calculs étant basés sur des données tabulées de cet indice. Il y a donc d'entrée un problème d'interprétation des résultats de nos calculs puisque de toute évidence, l'indice optique complexe du substrat ne correspond pas exactement à celui réellement utilisé au cours de l'expérimentation. Les résultats de notre calcul doivent donc être pris plus qualitativement que quantitativement. Dans ces conditions, nous obtenons pour un autre ensemble de trinômes des valeurs proches de celles données par Jobin-Yvon.

Nous retiendrons donc ces dernières données pour simuler les deux états de notre capteur, c'est-à-dire un indice de la monocouche de biotine égal à 1,446 et une variation d'épaisseur moyenne maximale de la monocouche d'avidine $\Delta d_1 = 7,8 \text{ nm} \pm 1,2 \text{ nm}$.

Pour ce faire, nous nous basons sur l'étude théorique réalisée au chapitre 2 et plus particulièrement sur les équations (2.59 et 2.63). Ces dernières donnent la variation d'indice effectif en fonction de la variation d'épaisseur de la sonde pour différentes profondeurs d'ouverture de la fenêtre d'analyse.

Comme précédemment (cf. description des phénomènes physiques mis en jeu), l'étude se décompose en deux parties : nous déterminerons tout d'abord la variation d'indice effectif N^0 vue par l'onde guidée avant la perturbation pour différentes profondeurs d'ouverture de la fenêtre d'analyse. Dans cette première partie, l'indice du milieu couvrant la surface d'analyse est l'indice mesuré de la biotine $n_1 = 1,446$. La seconde partie est consacrée à l'étude des variations d'indice effectif ΔN dues aux interactions biomoléculaires. Elle porte sur l'évolution de ΔN en fonction de la variation d'épaisseur de la sonde pour différentes profondeurs d'ouverture de la fenêtre d'analyse. La sonde est donc composée par les molécules d'avidine et sa variation moyenne d'épaisseur Δd_1 est comprise entre 0 nm et $7,8 \text{ nm} \pm 1,3 \text{ nm}$.

Les paramètres opto-géométriques utilisés pour nos simulations sont les suivants :

- longueur d'onde de travail égal à $1,31 \mu\text{m}$;
- diamètre extérieur de la fibre SMF 28 égal à $125 \mu\text{m}$;
- diamètre de cœur égal à $10 \mu\text{m}$;
- indice de cœur égal à $1,4675$;
- indice de gaine égal à $1,4617$.

A partir de ces données expérimentales, nous estimons la sensibilité théorique de notre biocapteur.

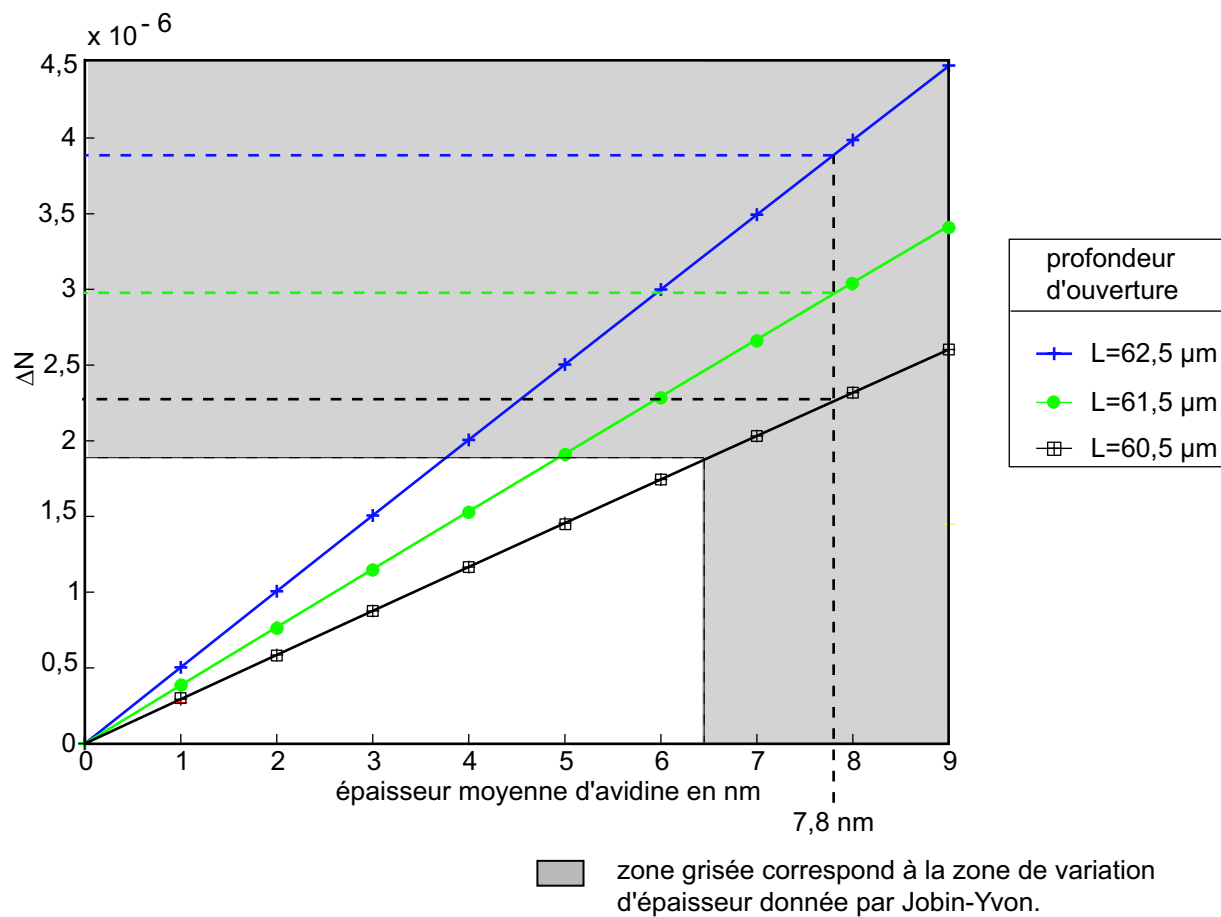


FIG. 3.48 – Sensibilité du biocapteur pour le couple biotine/avidine pour le mode TE.

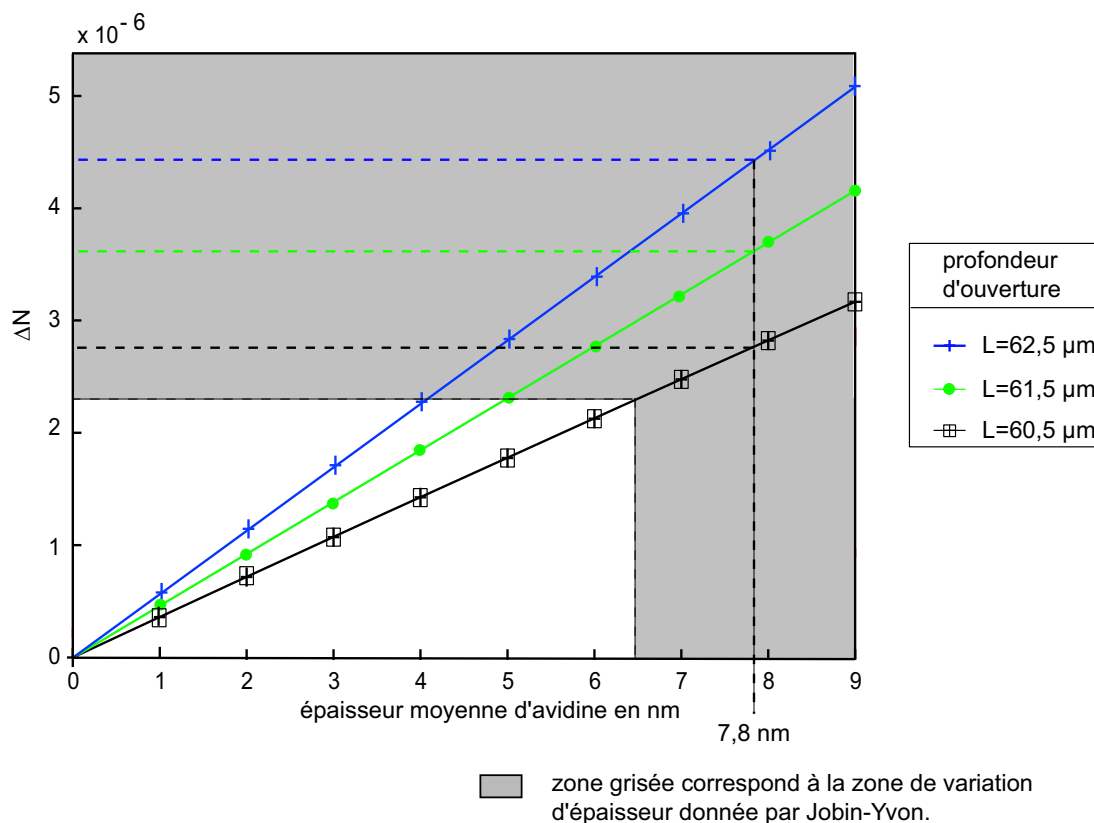


FIG. 3.49 – Sensibilité du biocapteur pour le couple biotine/avidine pour le mode TM.

La sensibilité du biocapteur est étudiée pour 3 profondeurs d'ouverture (figures 3.48 et 3.49). Cette sensibilité croît proportionnellement avec la profondeur d'ouverture de la fenêtre d'analyse. De plus cette sensibilité varie sensiblement pour les deux modes de polarisation, avec une sensibilité plus grande pour le mode TM. Il faudra donc tenir compte de ce phénomène lors des tests expérimentaux et travailler en lumière polarisée.

Enfin, pour un indice de sonde $n_1=1,446$ et une longueur d'onde de travail de $\lambda = 1,31 \mu\text{m}$, les variations extrêmes moyennes de l'indice effectif sont comprises entre $2,3 \cdot 10^{-6}$ et $3,9 \cdot 10^{-6}$ pour le mode TE et entre $2,8 \cdot 10^{-6}$ et $4,4 \cdot 10^{-6}$ pour le mode TM. Ces sensibilités "théoriques" sont du même ordre de grandeur que celle des biocapteurs fibrés existants et présentés dans le premier chapitre. Elles seront comparées par la suite aux valeurs expérimentales obtenues lors de la validation du biocapteur.

Nous allons à présent tenter de trouver une relation liant la variation d'épaisseur moyenne d'avidine au nombre de molécule d'avidine fixée par la sonde.

Cette étude fait l'objet de notre dernière partie.

3.6.4 Lien entre la variation d'épaisseur et la concentration

Jusqu'à présent, avec notre biocapteur nous observons les variations d'indice effectif de l'onde guidée au cours des réactions biomoléculaires. Ces variations d'indice sont liées aux variations d'épaisseur moyenne de la monocouche d'avidine à la surface de la sonde. Il serait intéressant de relier ces variations d'épaisseur au nombre de molécules d'avidine fixées par la sonde.

Avant de commencer toute étude, il faut bien noter que le nombre de molécules d'avidine détectable par notre système est compris entre deux limites. La borne supérieure, c'est-à-dire le nombre maximal de molécules fixées par la sonde, est limitée par la taille de la sonde (taille de la fenêtre active). La borne inférieure est quant à elle fixée par le système d'interrogation, à savoir par la plus petite variation d'indice effectif détectable en modulation de cohérence. C'est donc le bruit de détection qui fixera cette valeur.

Afin d'estimer grossièrement le nombre de molécules d'avidine fixées par la sonde, nous allons déterminer l'épaisseur moyenne de la couche fixée. Une approximation linéaire donne :

$$\langle d \rangle = e_A \cdot \frac{S_A}{S_{\text{capteur}}} \quad (3.17)$$

où :

- $\langle d \rangle$ est l'épaisseur moyenne de la monocouche d'avidine ;
- e_A est "l'épaisseur" de la molécule d'avidine ;
- S_A est la surface occupée par la monocouche d'avidine ;
- S_{capteur} est la surface active de la fenêtre.

Par ailleurs, la surface occupée par la monocouche d'avidine peut s'écrire :

$$S_A = N_A \cdot s_A \quad (3.18)$$

avec :

- N_A est le nombre de molécules d'avidine fixées sur la sonde ;
- s_A est la surface occupée par une molécule d'avidine.

Les dimensions de la molécule d'avidine sont données sur la figure 3.37. L'avidine est considérée comme étant contenue dans un cube d'arête e_A égal à 8,8 nm. L'équation 3.17 s'écrit alors :

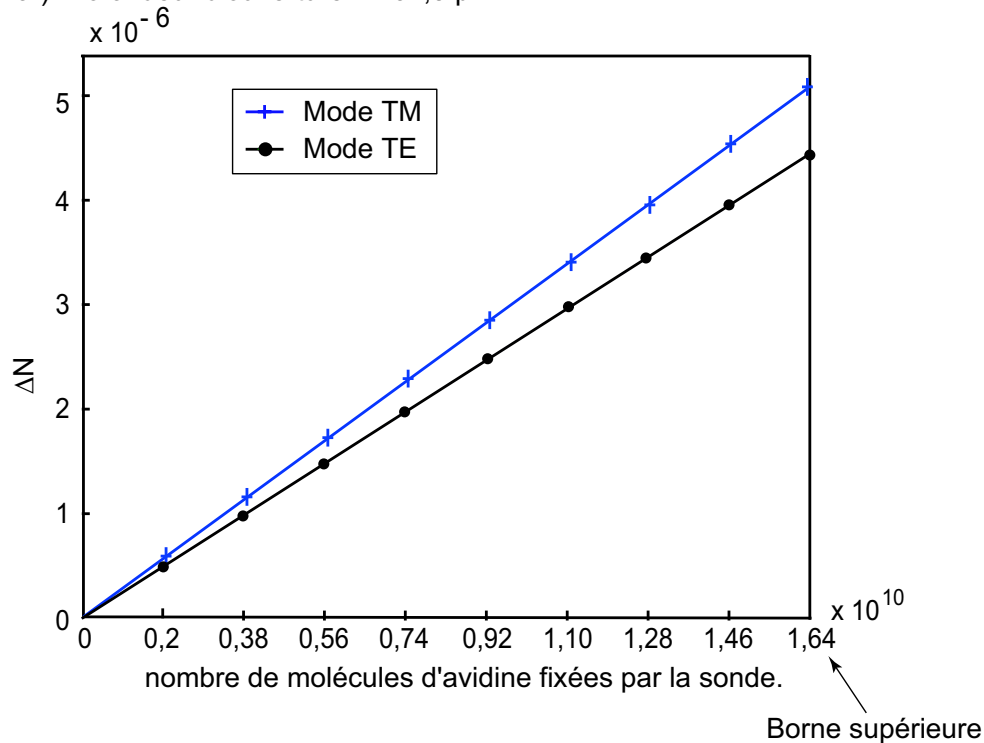
$$N_A = \frac{\langle d \rangle \cdot S_{\text{capteur}}}{e_A^3} \quad (3.19)$$

La détermination de N_A est effectuée pour les trois profondeurs d'usinage étudiées précédemment (figures 3.48 et 3.49). Pour ces trois profondeurs d'ouverture, nous déterminons tout d'abord la surface de la sonde.

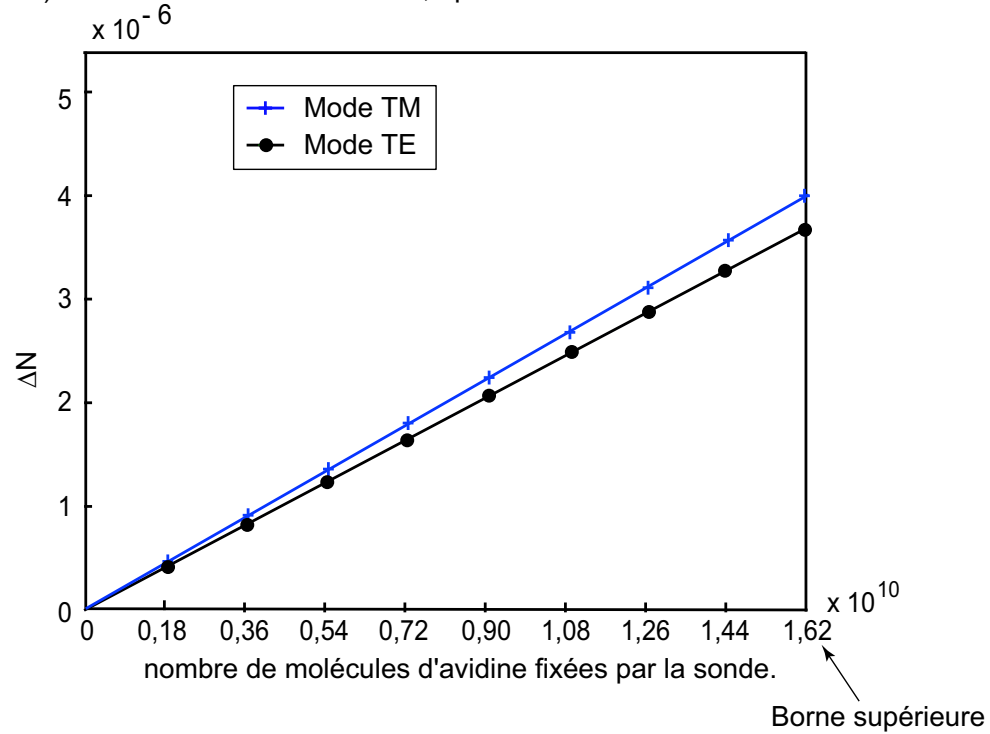
| Profondeur d'usinage | longueur de la sonde | surface de la sonde (S_{capteur}) |
|----------------------|----------------------|--|
| 62,5 μm | 10 mm | 1,25 mm ² |
| 61,5 μm | 10 mm | 1,23 mm ² |
| 60,5 μm | 10 mm | 1,21 mm ² |

À partir des courbes données sur les figures 3.48, 3.49 et de l'équation 3.19, nous déduisons la variation d'indice effectif de l'onde guidée dans le biocapteur en fonction du nombre de molécules d'avidine fixées sur la sonde (figure 3.50).

a.) Profondeur d'ouverture $L = 62,5 \mu\text{m}$.



b.) Profondeur d'ouverture $L = 61,5 \mu\text{m}$.



c.) Profondeur d'ouverture $L = 60,5 \mu\text{m}$.

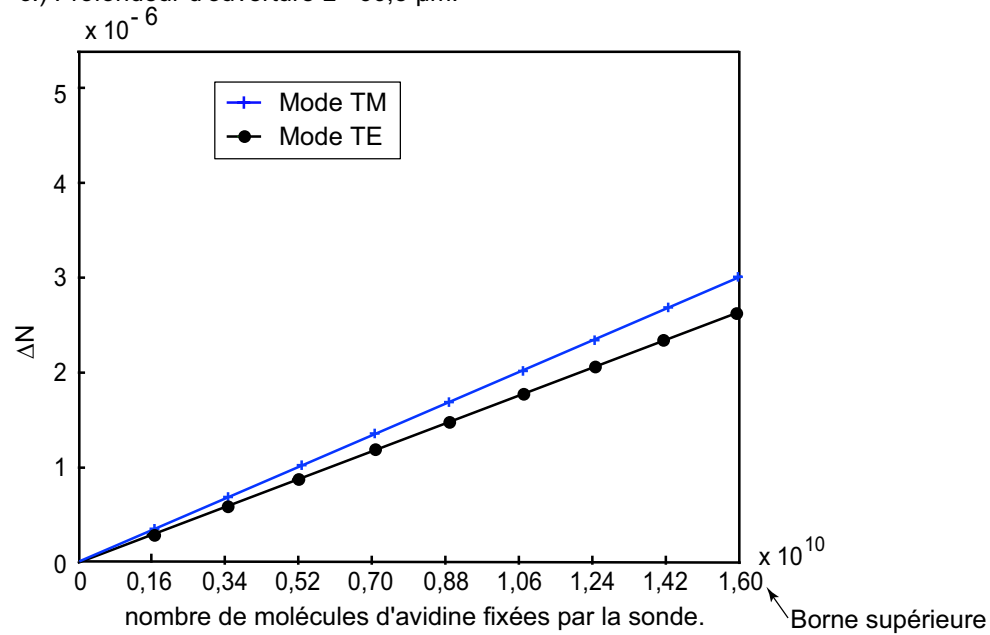


FIG. 3.50 – Variation de l'indice effectif en fonction du nombre de molécules d'avidine fixées par la sonde.

Dans le cas où le nombre de molécules d'avidine présentes est inférieur à la borne supérieure, c'est-à-dire inférieur ou égal au nombre de sites vacants sur la sonde, il est alors possible de déterminer la concentration molaire d'avidine présent dans la solution à étudier. La relation utilisée est la suivante :

$$C_A = \frac{N_A}{N_o \cdot V} \quad (3.20)$$

où :

- C_A est la concentration molaire de l'avidine en solution ;
- N_o est le nombre d'avogadro ;
- V est le volume de la solution à étudier.

Avant d'achever cette partie, il est important de déterminer la limite inférieure de notre système, c'est-à-dire la plus petite variation d'indice effectif que l'on détecte en tenant compte du bruit.

Dans le second chapitre, nous avons déterminé l'expression théorique de l'intensité détectée par le photo-détecteur (équation 2.9) lors de l'interrogation en réflexion du biocapteur.

Cette expression s'écrit sous la forme suivante :

$$I(\delta) = I_0 \cdot \frac{M}{4} [1 - \pi \sigma_0 \delta] \quad (3.21)$$

La signification de chacun des différents paramètres de cette relation est donnée dans la partie 2.3.2.

Le photo-détecteur utilisé est un photo-détecteur DET 410 de chez Thorlabs. Le niveau de bruit mesuré (exprimé en puissance lumineuse) d'un tel appareil est égal à $I_B = 1,411 \cdot 10^{-9}$ W dans des conditions réelles avec une fibre continue, i.e. sans ouverture. Bien évidemment en présence d'une ouverture, il est nécessaire de considérer les pertes introduites sur l'intensité lumineuse durant son parcours dans le biocapteur. Pour ce faire, nous nous référons à la figure (3.33) qui donne la puissance transmise pour différentes profondeur d'usinage. Nous obtenons alors les valeurs suivantes :

| profondeur d'usinage | 62,5 μm | 61,5 μm | 60,5 μm |
|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| I_0 en W | $2,987 \cdot 10^{-6}$ | $4,704 \cdot 10^{-6}$ | $8,232 \cdot 10^{-6}$ |

C'est à partir de cette intensité I_B que nous déterminons la plus petite variation d'indice effectif détectée par notre système. Cette plus petite variation (ΔN_{min}) est obtenue à partir de l'expression 3.21. En effet, l'intensité I_B peut s'écrire sous la forme suivante :

$$I_B = I_0 \cdot \frac{M}{4} (2\pi \cdot l_0 \cdot \sigma_0 \cdot \Delta N_{min}) \quad (3.22)$$

la plus petite variation d'indice effectif détectée par notre système s'écrit alors :

$$\Delta N_{min} = \frac{I_B}{I_0} \cdot \frac{(1 - R)^2 \cdot \lambda_0}{2\pi \cdot R \cdot l_0} \quad (3.23)$$

Nous calculons cette limite pour la cavité étudiée dans la partie 3.4.2. Cet interféromètre présente les caractéristiques suivantes :

- une longueur d'ouverture de la fenêtre d'analyse l_0 égale à 10 mm ;
- une réflectivité des miroirs de 10%.

De plus, notre longueur d'onde de travail est toujours égal à 1,31 μm .

Dans ces conditions pour une interrogation en réflexion par modulation de cohérence de notre biocapteur, la plus petite variation d'indice effectif que nous détectons en tenant compte du bruit (limite inférieure de notre système) pour différentes profondeurs d'ouverture est égale à :

| | | | |
|---|----------------------|-----------------------|----------------------|
| profondeur d'usinage | 62,5 μm | 61,5 μm | 60,5 μm |
| plus petite variation d'indice effectif | $7,97 \cdot 10^{-8}$ | $4,704 \cdot 10^{-8}$ | $2,98 \cdot 10^{-8}$ |

À partir de la figure 3.50, nous pouvons donner la correspondance entre cette valeur limite et le plus petit nombre de molécules d'avidine fixées par la sonde que nous sommes capables de détecter.

| | | | |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|
| profondeur d'usinage | 62,5 μm | 61,5 μm | 60,5 μm |
| nombre minimal de molécules détectées en TM | $2,61 \cdot 10^8$ | $2,04 \cdot 10^8$ | $1,56 \cdot 10^8$ |
| nombre minimal de molécules détectées en TE | $2,9 \cdot 10^8$ | $2,34 \cdot 10^8$ | $1,87 \cdot 10^8$ |

3.6.5 Conclusion

Nous venons donc de réaliser des monocouches autoassemblées, qui fonctionnaliseront notre biocapteur. Le processus de réalisation est connu, maîtrisé et reproductible. De plus, une étude des caractéristiques optiques de ces monocouches (sonde puis sonde+analytes) combinée à l'étude théorique effectuée au chapitre 2, nous confère la sensibilité théorique de notre biocapteur pour le couple biotine/avidine.

Ces résultats théoriques seront à confirmer lors de la validation expérimentale de notre biocapteur.

3.7 Validation expérimentale

Dans cette dernière partie, nous exposons les premiers résultats expérimentaux obtenus à partir d'un interféromètre de test. Nous présentons tout d'abord l'architecture choisie, puis nous nous intéressons aux différentes étapes de sa réalisation et de sa caractérisation. Enfin, nous terminons cette partie par la présentation avec les premiers résultats expérimentaux.

3.7.1 Architecture test

Dans le but de valider rapidement par des mesures expérimentales les principaux résultats théoriques ainsi que les différents processus développés, nous avons mis au point une architecture test différente de celle initialement envisagée (figure 3.51).

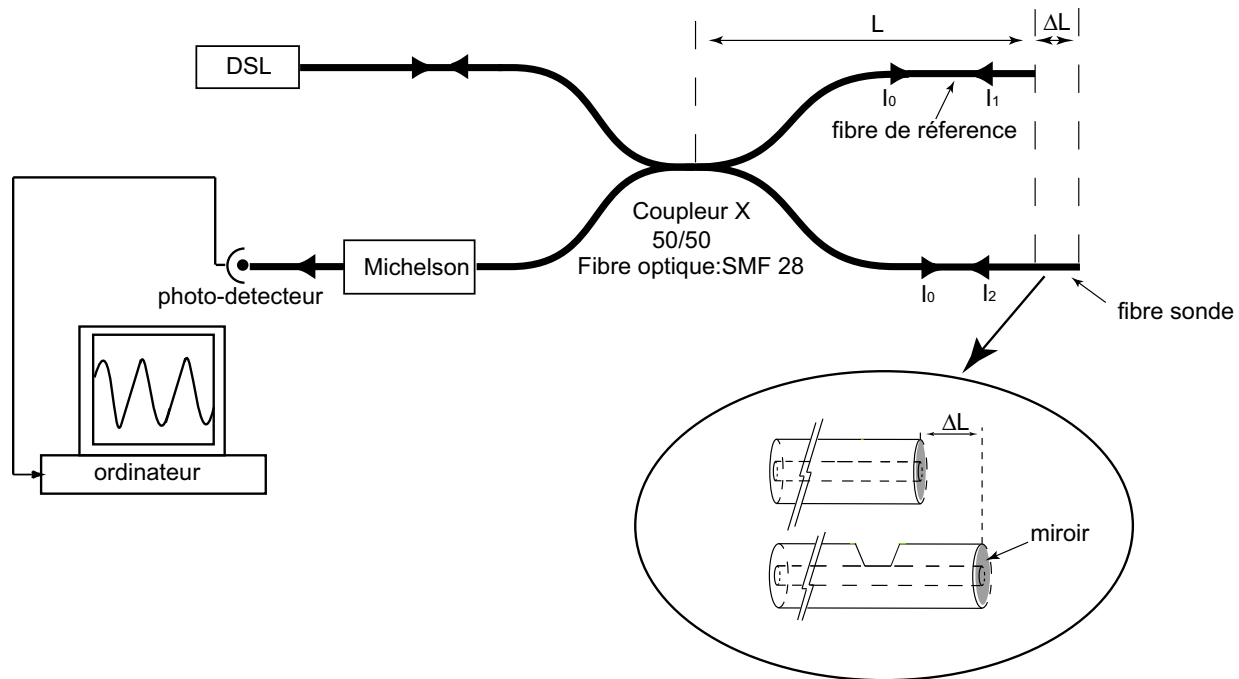


FIG. 3.51 – Architecture test.

Cette architecture test offre un fonctionnement similaire au biocapteur développé et présenté tout au long du manuscrit. Elle consiste en la réalisation d'un interféromètre à deux ondes composés de deux bras (un bras de référence et un bras sonde), présentant une différence de longueur ΔL (figure 3.51).

Nous appliquons sur ce système test les différentes technologies développées précédemment, à savoir :

- le dépôt de miroirs en extrémité de fibres ;
- l'ouverture d'une fenêtre d'analyse.

La première étape est la réalisation des miroirs en extrémités de nos fibres et la validation de l'interrogation par modulation de cohérence de cette architecture test.

3.7.2 Dépôt de miroirs et interrogation par modulation de cohérence

Cette première étape est réalisée à partir du processus développé dans la partie 3.2 du manuscrit. Les miroirs réalisés présentent une réflexion en intensité d'environ 20%.

A partir de ces valeurs nous déterminons la visibilité théorique de notre système test. Cette dernière devra être confirmée lors de l'interrogation par modulation de cohérence.

L'expression de la visibilité est la suivante :

$$V = \frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max} + I_{min}} \quad (3.24)$$

Pour un interféromètre à deux ondes, l'expression 3.24 s'écrit sous la forme suivante :

$$V = \frac{\sqrt{I_1 \cdot I_2}}{I_1 + I_2} = \frac{\sqrt{R_1 \cdot R_2}}{R_1 + R_2} \quad (3.25)$$

où : $I_1 = R_1 \cdot I_0$ et $I_2 = R_2 \cdot I_0$ représentent respectivement les intensités réfléchies dans le bras de référence et dans le bras sonde de notre architecture test (figure 3.51). R_1 et R_2 représentent les coefficients de réflexion en intensité des miroirs et I_0 est l'intensité incidente dans chacun des bras.

Comme nous l'avons vu précédemment, les miroirs réalisés présentent une réflectivité $R_1 = R_2 = 23\%$. Dans ces conditions, la visibilité théorique de notre interféromètre à deux ondes est égale à 100% pour un retard nul dans le Michelson d'interrogation et 50% pour un retard de $n_{eff} \cdot \Delta L$.

• Validation expérimentale

Cette visibilité théorique sera validée par une mesure expérimentale. Pour ce faire, nous interrogeons notre interféromètre à deux ondes via un interféromètre de Michelson, la méthode retenue étant la modulation de cohérence (figure 3.51).

Nous observons donc la fonction d'intercorrrelation (retard moyen de $n_{eff} \cdot \Delta L$) de notre architecture test (figure 3.52).

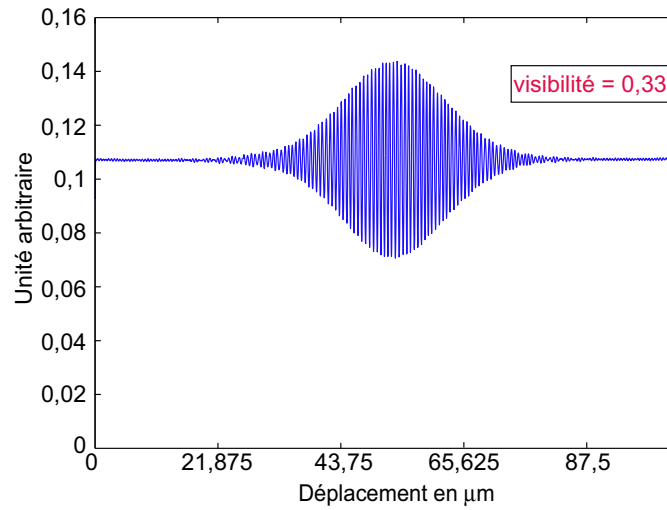


FIG. 3.52 – Intercorrélation de l'architecture test.

A partir de cette intercorrrelation, il est aisé de déterminer la visibilité expérimentale de notre architecture test, ainsi que la différence de marche expérimentale (ΔL) de notre interféromètre.

Après exploitation de la figure 3.52, nous obtenons :

- une visibilité expérimentale égale à 33% ;
- une différence de marche expérimentale ($n_{eff} \cdot \Delta L_{exp}$) égale à 10 mm.

Nous observons donc, d'une part un écart assez important entre la valeur théorique et expérimentale de la visibilité. Cet écart est imputé à un réglage imparfait de notre interféromètre d'interrogation (parallélisme des miroirs). Ce réglage reste suffisant pour poursuivre nos travaux. D'autre part, la différence de marche expérimentale ($n_{eff} \cdot \Delta L_{exp}$) est en accord avec la différence de marche théorique ($n_{eff} \cdot \Delta L_{theo} = 10 \text{ mm} \pm 1 \text{ mm}$).

Cette première caractérisation expérimentale, valide dans un premier temps notre système d'interrogation ainsi que notre interféromètre à deux ondes, avant de passer à la seconde étape de validation, à savoir l'interrogation du système ouvert.

3.7.3 Ouverture de la fenêtre d'analyse

Cette seconde étape est réalisée à partir du processus d'usinage mécanique développé et présenté dans la partie 5.3 du manuscrit. Nous sommes capables d'usiner des fibres optiques avec une précision sur la profondeur d'attaque égale au micromètre et d'avoir accès aux pertes d'intensité lumineuse dues à l'ouverture (figure 3.33).

Le bras sonde de l'architecture test est usiné jusqu'à un micron du centre de la fibre (figure 3.53). La finition de l'usinage est effectuée à partir d'une poudre de diamant dont la taille du grain est d'environ $1\ \mu\text{m}$.

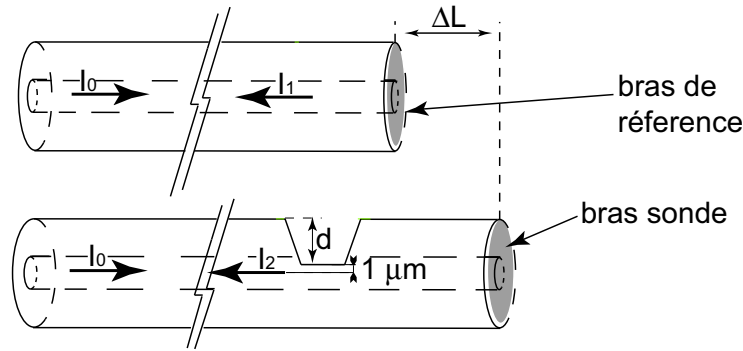


FIG. 3.53 – Ouverture de la fenêtre d'analyse.

Après ouverture et d'un point de vue théorique, les expressions des intensités réfléchies par l'extrémité de chacun des deux bras changent et sont les suivantes :

$$I_1 = R_1 \cdot I_0 \quad (3.26)$$

$$I_2 = R_2 \cdot \rho^2 \cdot I_0 \quad (3.27)$$

Où ρ^2 représente les pertes d'intensité lumineuse au niveau de l'ouverture. Sa valeur s'obtient à partir des courbes 3.33.

L'expression 3.25 de la visibilité prend alors la forme suivante :

$$V = \frac{\rho \cdot \sqrt{R_1 \cdot R_2}}{R_1 + \rho^2 R_2} \quad (3.28)$$

Dans notre cas pour une profondeur d'attaque $d = 62 \mu\text{m}$, ρ est égal à 0,6. La visibilité théorique de notre interféromètre à deux ondes (avec un bras usiné) est donc égale à 44%.

• Validation expérimentale

Comme précédemment, cette visibilité théorique doit être validée par une mesure expérimentale.

Nous observons donc la nouvelle fonction d'intercorrélation de notre architecture test usinée (figure 3.54).

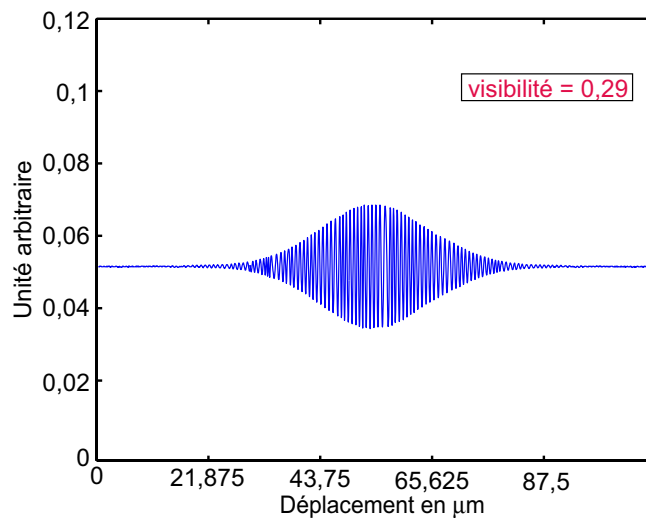


FIG. 3.54 – Intercorrélation de l'architecture test usinée.

Comme précédemment, nous observons un léger décalage entre la valeur théorique de la visibilité et la valeur expérimentale de ce dernière. Cet écart est toujours imputé au réglage du Michelson d'interrogation. Cependant nous pouvons estimer, par une simple loi linéaire, la valeur théorique attendue : $V_{theo} = 44 \times 33/50 = 29 \%$. Cette valeur est en très bon accord avec celle effectivement mesurée et nous permet donc de valider notre système d'interrogation sur une architecture ouverte.

Il nous reste alors à effectuer la dernière étape de nos travaux, à savoir la validation du fonctionnement d'une telle architecture comme capteur.

3.7.4 Détection de milieu extérieur

Nous avons donc à présent un capteur, à savoir un interféromètre à deux ondes (partie passive du transducteur), dans lequel une fenêtre d'analyse est réalisée (partie active du transducteur). Il nous reste à valider cette architecture par des mesures expérimentales. Pour ce faire nous observons l'évolution du signal mesuré pour une modification du milieu extérieur (figure 3.55). Cette étude ne porte donc pas sur les modifications du point de fonctionnement du capteur sous l'effet d'une monocouche mais sous l'effet d'un changement de milieu considéré ici comme semi infini.

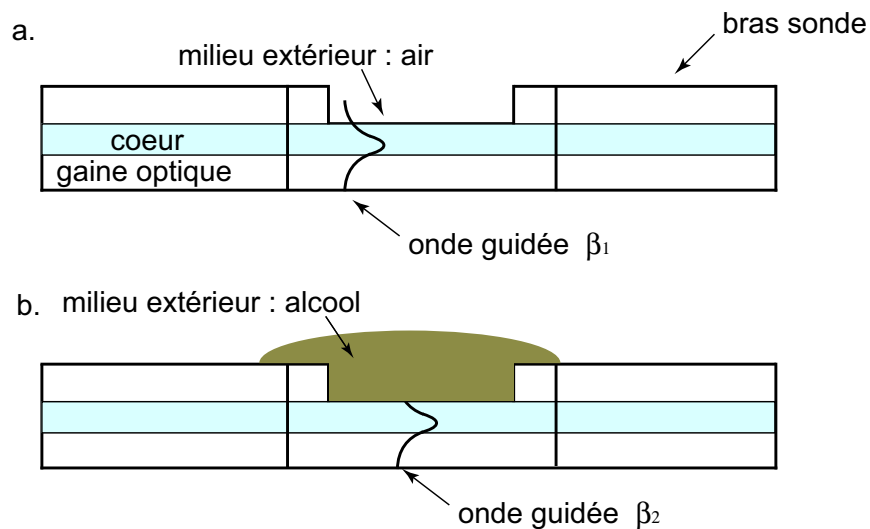


FIG. 3.55 – Deux états de l'architecture test.

Comme tout au long du manuscrit, ce travail est effectué en deux étapes. Nous avons tous d'abord étudié d'un point de vue théorique le fonctionnement de l'architecture test pour une modification du milieu extérieur (figure 3.55), puis nous avons effectué les mesures expérimentales pour cette même modification.

•Étude théorique

L'étude est effectuée à l'aide du logiciel Femlab[®], avec lequel nous avons observé l'évolution de l'indice effectif vu par l'onde guidée dans la fibre (figure 3.56) en fonction de l'indice du milieu couvrant (ou milieu extérieur).

- milieu ① : milieu extérieur
- milieu ② : gaine optique de la fibre d'indice 1,4617
- milieu ③ : coeur de la fibre d'indice 1,4675

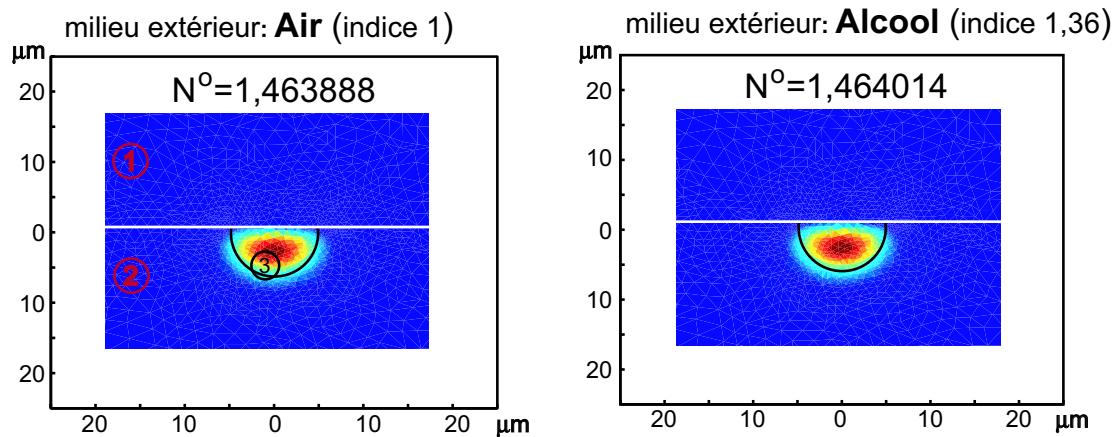


FIG. 3.56 – Evolution du champ guidé \vec{E} (mode TE) pour deux milieux extérieurs différents.

Nous observons que pour une variation d'indice du milieu extérieur égale à 0,36, l'indice effectif vu par l'onde guidée subit quant à lui une variation de l'ordre de $1,26 \cdot 10^{-4}$.

Cette variation théorique de l'indice effectif doit être maintenant validée par une mesure expérimentale.

• Validation expérimentale

Afin de s'affranchir des fluctuations de l'environnement de mesure, nous avons placé notre capteur dans une boîte isolante. Bien que cette boîte ne soit pas thermostatée, nous obtenons un système très bien isolé (variation de $0,1^\circ\text{C}$ sur 8 heures) nous permettant ainsi d'effectuer les mesures expérimentales.

Nous nous plaçons dans un premier temps sur une zone linéaire, via l'interféromètre de décodage, de l'interférogramme d'intercorrélation de l'architecture test (figure 3.57).

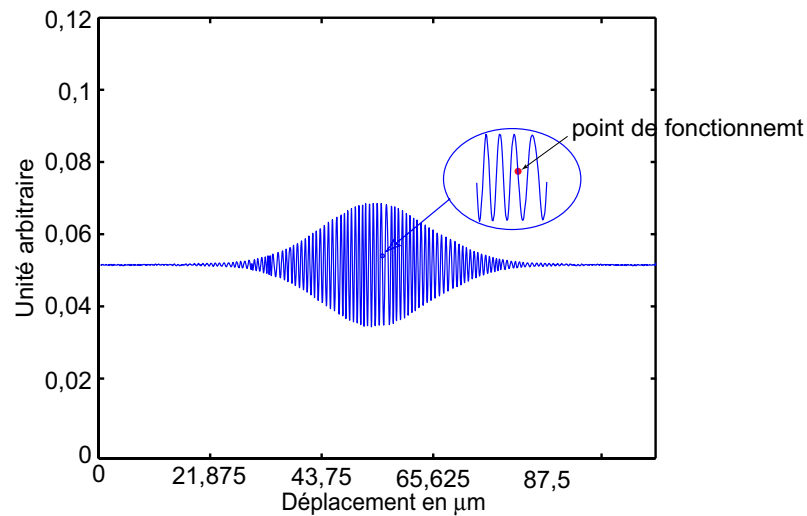


FIG. 3.57 – Zone linéaire de l'interférogramme d'intercorrélacion de l'architecture test.

Puis nous observons l'évolution de l'intensité réfléchiée par notre système test au cour du temps (figure 3.58).

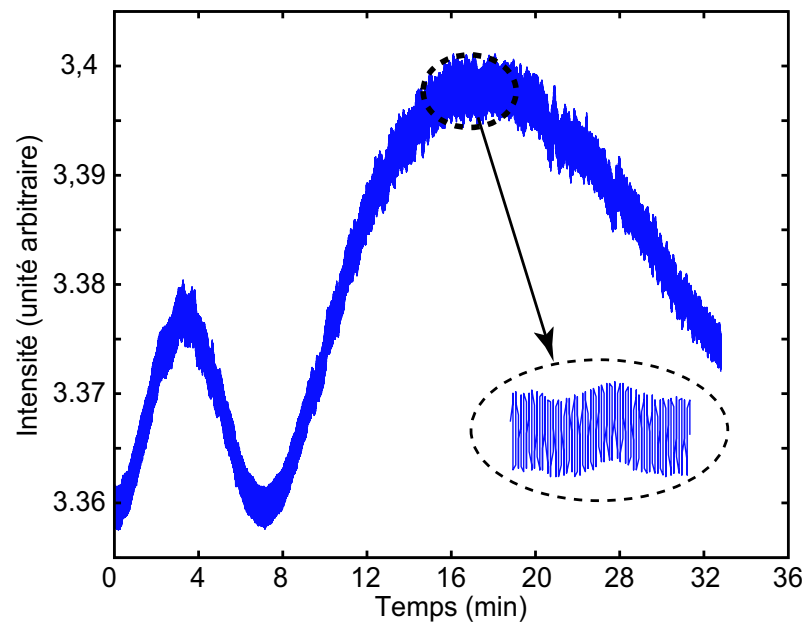


FIG. 3.58 – Evolution de l'intensité transmise par le capteur au cours du temps .

L'intensité observé devrait être constante au cours du temps. Cependant dans notre cas (figure 3.58), nous observons des fluctuations. Celles-ci sont de deux ordres : une lente et une

rapide. Après étude de ces phénomènes, il s'avère que ces fluctuations sont dues à notre source (DSL) et plus particulièrement au contrôle en température de celle-ci (asservissement).

Toutefois, des premières mesures ont put être effectuées (figure 3.59) sur des échelles de temps rapide (devant les fluctuations lentes) en utilisant comme milieu extérieur soit l'air soit l'alcool éthylique.

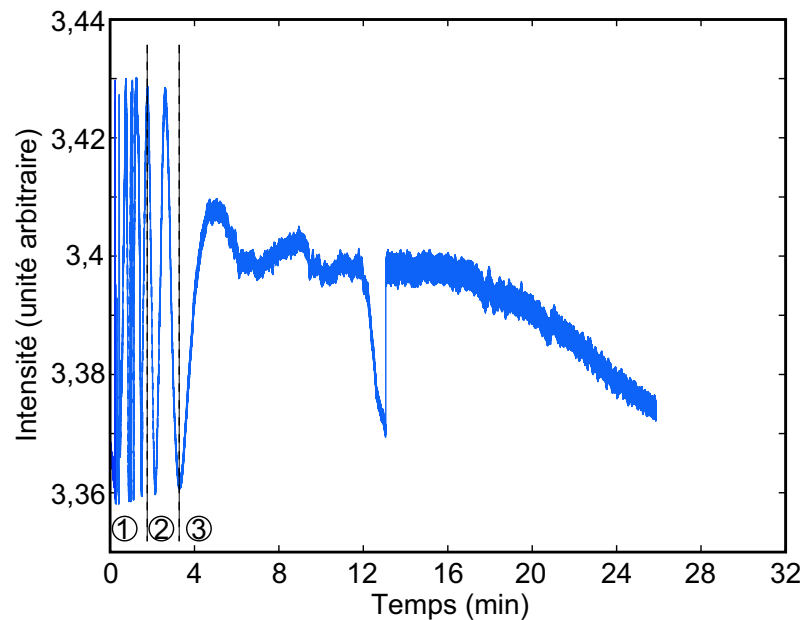


FIG. 3.59 – Evolution expérimentale de l'intensité transmise par le biocapteur pour une variation de milieu extérieur (passage air → alcool → air).

La courbe expérimentale figure 3.59 se décompose en trois parties. Nous observons dans un premier temps une zone d'oscillation rapide qui correspond au changement de milieu (passage de l'air à l'alcool). Puis, le point de fonctionnement décrit la figure d'interférence du spectre cannelé (zone 2). C'est cette zone que nous étudions afin de remonter à l'information de base recherchée, à savoir la variation d'indice effectif entre les deux états (air/alcool). Enfin, dans la dernière zone (zone 3), l'alcool c'est évaporé et le système tend vers son état initial, c'est-à-dire celui des fluctuations d'intensités dues à la source.

Dans la zone 2, le point de fonctionnement se déplace sur une frange et demi, nous avons donc un retard optique, dû au changement de milieu extérieur, égal à $1,5 \cdot \lambda$.

Nous pouvons alors écrire la relation suivante :

$$\delta = 1,5.\lambda = 2.\Delta(n_{eff}.\Delta L) = 2.\Delta n_{eff}.\Delta L \quad (3.29)$$

où : Δn_{eff} est la variation d'indice effectif vu par l'onde guidée et ΔL est la différence de longueur entre les deux bras de notre capteur.

Cette différence de marche est égale à 7 mm et la longueur d'onde de travail est égale à 1,31 μm . Nous obtenons donc une variation d'indice effectif expérimentale Δn_{eff} égale à $1,4.10^{-4}$. Ce qui donne un écart de 9% entre cette valeur expérimentale et la valeur théorique calculée précédemment. Il y a une très bonne concordance entre la théorie et l'expérience.

De plus, à partir de cette courbe nous estimons la sensibilité limite de notre système pour une variation du milieu extérieur (milieu semi-infini). Pour ce faire, il nous faut utiliser le niveau de bruit de notre système de détection.

Dans le cas où la source optique est stabilisée (suppression des fluctuations lentes et rapides), le plus petit déplacement du point de fonctionnement sur notre interférogramme (figure 3.58) que nous pouvons détecter en tenant compte du bruit est égale à $0,02\lambda$. A partir de l'équation 3.29, le calcul de la plus petite variation d'indice effectif détectée par notre système, nous donne une valeur de 2.10^{-6} .

3.8 Conclusion du chapitre

Tout au long de ce troisième chapitre, nous avons successivement exposé chacun des processus développés afin de réaliser notre système.

Dans un premier temps, nous avons décrit la réalisation de la partie passive du transducteur, réalisation qui se fait en trois étapes : la première est la fabrication de miroirs en extrémité de fibres avec la réflectivité souhaitée. Le processus de soudure des fibres et la caractérisation de celles-ci ont ensuite été précisés. Enfin, la troisième phase a abouti à la finalisation de la cavité Fabry-Pérot intrinsèque et à la détermination expérimentale de ses propriétés.

Dans un second temps, notre étude s'est portée sur la zone active du transducteur. Nous avons tout d'abord exposé le système utilisé pour réaliser l'ouverture de la fenêtre active, puis

nous avons défini les principales caractéristiques des différentes fenêtres usinées.

La réalisation de la sonde a constitué la conclusion de ce travail. Elle correspond à la fonctionnalisation de la fenêtre d'analyse. Il s'agissait pour cela tout d'abord de choisir et de caractériser optiquement le couple sonde/analyte retenu. Puis à partir de cette caractérisation expérimentale associée à l'étude théorique menée au chapitre 2, nous avons déterminé la sensibilité de notre biocapteur pour le couple biotine/avidine, sensibilité qui a été reliée, dans une dernière partie, à la quantité d'analyte potentiellement détectable par le biocapteur.

Au final, chaque composant de notre système est réalisé, caractérisé et maîtrisé. La connaissance approfondie du comportement des matériaux en présence, et des phénomènes qui ont lieu aux différentes interfaces entre le milieu de mesure et l'élément sensible de détection, combinée à l'étude théorique menée dans le second chapitre, nous offrent une compréhension du fonctionnement futur du biocapteur.

Cette approche est nouvelle en soi. Contrairement à la majorité des biocapteurs qui sont réalisés puis caractérisés, nous avons souhaité connaître la réponse du biocapteur en fonction de la grandeur recherchée.

Ces résultats, combinant théorie et mesures expérimentales, devront être validés par une campagne de mesures expérimentales à réaliser lors de la finalisation prochaine du biocapteur.

Dans ce sens, une première partie de ce travail a été effectuée à partir d'une architecture test présentant un fonctionnement similaire au biocapteur développé, nous avons validé les principaux résultats théoriques développés dans ce manuscrit par des mesures expérimentales.

Il en résulte que pour une interrogation en réflexion par modulation de cohérence de notre capteur, la plus petite variation d'indice effectif (en tenant compte du bruit actuel de détection) est égale à 2.10^{-6} .

Conclusion générale

L'étude menée dans ce manuscrit s'inscrit dans le domaine plus vaste des biocapteurs. Elle a été réalisée dans le cadre d'une Action Concertée Initiative regroupant plusieurs laboratoires aux compétences complémentaires. L'objet de cette recherche est de répondre aux besoins d'instrumentations pour le diagnostic de pathologies humaines et plus particulièrement le diagnostic d'allergies alimentaires. Ce travail est donc une première étape vers l'application des méthodes de contrôle optique au domaine biomédical, à l'aide d'une architecture (ultra) miniaturisée.

Il existe d'ores et déjà un grand nombre de systèmes dédiés au diagnostic d'allergies alimentaires même s'ils restent relativement peu adaptés (coût, temps d'analyse...) à une demande de plus en plus exigeante (concernant les différentes variétés de substances cibles) et en pleine expansion.

L'essentiel du travail constitue un premier pas dans ce domaine. Concrètement, nous nous sommes fixé l'objectif de développer un biocapteur à la taille et au prix moindre, autorisant l'exploration *in situ* d'un grand nombre d'échantillons et l'identification ou le dosage en parallèle d'une large gamme de substances cibles.

Pour répondre à cette ambition, nous avons d'abord effectué un état de l'art de différents types de biocapteurs développés. Nous avons précisé les notions de bases employées dans le mémoire et rendu compte des principales méthodes utilisées pour analyser les interactions biomoléculaires. Par ailleurs, nous avons présenté l'outil biocapteur à travers les caractéristiques qui lui sont propres, à savoir une description sommaire du principe de fonctionnement des différentes méthodes existantes, l'ordre de grandeur des quantités de matière mesurées ainsi que les limites inhérentes à ces différents dispositifs.

Suite à cette présentation générique, le cadre, les objectifs et la structure de notre biocapteur ont été définis. Nous avons donc conçu *un biocapteur fibré intrinsèque continu et multicibles fonctionnant en direct*. Après une description générale du système, nous avons étudié un à un,

d'un point de vue purement théorique, les trois éléments composant notre dispositif ainsi que leurs différentes interactions. De cette étude ont découlé des contraintes quant à la réalisation des différents éléments constituant notre biocapteur, ainsi qu'une connaissance des phénomènes physico-chimiques aux différentes interfaces entre le milieu d'étude et l'élément sensible de détection.

Pour finir, chacun de ces différents éléments a été élaboré et caractérisé indépendamment sur des fibres nues, validant ainsi les processus développés.

Ainsi, dans un premier temps, nous avons décrit la réalisation de la partie passive du transducteur, à savoir la cavité Fabry-Pérot intrinsèque limitée par des miroirs multicouches. Chaque étape du processus de fabrication de cet interféromètre a été détaillée.

Nous avons ensuite usiné des fibres dans le but d'ouvrir une fenêtre d'analyse. Cette seconde étape de fabrication présentait un défi technologique auquel nous avons répondu. L'architecture développée est nouvelle et ouvre des perspectives dans la réalisation de **capteurs** et biocapteurs basés sur une perturbation du champ évanescent (ou plasmonique).

La réalisation de la sonde (ou biorécepteur) a constitué la dernière partie de ce travail. Nous avons en premier lieu présenté et caractérisé le couple sonde/analyte retenu. Puis en combinant les résultats expérimentaux et l'étude théorique menée au second chapitre, nous avons modélisé le fonctionnement futur de notre biocapteur. Plus particulièrement, nous avons évalué la sensibilité de ce dernier pour le couple biotine/avidine pour différentes configurations technologiques du système.

Les travaux présentés dans ce manuscrit constituent une première étape encourageante d'un vaste projet de recherche. Il reste cependant à finaliser notre biocapteur et à effectuer une campagne de mesures expérimentales qui viendra valider l'étude prévisionnelle menée sur la sensibilité du biocapteur, ainsi qu'à affiner l'étude théorique développée dans le second chapitre.

De plus, l'architecture bien particulière de notre biocapteur nous permet d'envisager une évolution de ce dernier dans d'autres domaines d'applications. En effet, l'intégration complète des différents éléments du système sur une même fibre optique offre à notre biocapteur un très haut degré de miniaturisation permettant ainsi d'obtenir des mesures dans des lieux peu accessibles et/ou hostiles (explosifs, toxiques...). Enfin, la possible fonctionnalisation par un grand nombre de sondes rend l'analyse des interactions biomoléculaires quasi-illimitée.

Les perspectives liées à ce travail sont diverses. A titre d'exemple, nous pouvons citer la réalisation d'un biocapteur auto-régulé combinant :

- ★ un capteur en température, à savoir une cavité Fabry-Pérot intrinsèque ;

- ★ un capteur en pression, soit une seconde cavité Fabry-Pérot intrinsèque ;
- ★ une détection multiparamétrique avec la mise en cascade ou en parallèle de plusieurs biocapteurs fonctionnalisés par différentes sondes.

Les informations de pression et de température apporteraient une connaissance plus fine des fluctuations du milieu d'analyse rendant ainsi plus sûres les détections envisagées.

Glossaire

Analyte

Dans une procédure d'analyse, substance à mesurer (appelé aussi **Cible**).

Anaphylaxie

État d'hypersensibilité provoqué par l'injection préalable d'un **antigène**.

Anaphylactique

Qui a trait à l'anaphylaxie.

Anticorps

Protéine synthétisée par les plasmocytes en réponse à l'introduction dans l'organisme d'un antigène particulier, et qui est capable de se combiner avec cet antigène pour le neutraliser.

Antigène

Toute substance capable de déclencher une réponse immunitaire, que cette dernière soit à médiation humorale (anticorps) ou à médiation cellulaire (lymphocytes T).

Avidine

Protéine entrant dans la composition du blanc d'œuf.

Biocapteur

Dispositif où les interactions biologiques sont couplées à un **transducteur**.

Biopuce

Petite plaque en verre, en silicium ou en plastique, sur laquelle sont déposées des molécules organiques servant à exécuter une ou des tâches liées le plus souvent à l'analyse ou à la détection d'autres molécules.

Biotine

Vitamine H. Molécule ayant une très grande affinité (10^{15} M^{-1}) pour l'avidine.

Carboxylase

Enzyme qui catalyse la fixation du CO_2 sur une molécule (carboxylation).

Cible

Espèce biologique en solution injectée pour interagir avec la **sonde** (convention utilisée dans le biocapteurs).

Coenzyme

Structure non protéique, dissociable ou non, de certaines enzymes, nécessaire à leur activité.

Dermatite atopique

Réaction inflammatoire et très prurigineuse de la peau, se manifestant sous forme de lésions érythémato-vésiculeuses suintantes, localisées surtout au visage et aux plis cutanés mais pouvant aussi se généraliser. Ces lésions apparaissent de façon caractéristique au cours des 6 premiers mois de la vie et, dans certains cas, disparaissent vers l'âge de 5 ans. L'étiologie de l'eczéma n'est pas toujours bien tranchée dans le sens constitutionnel ou dans le sens allergique.

Encéphalopathie Spongiforme Bovine

Maladie neurodégénérative mortelle qui affecte le système nerveux central des bovins.

Épitope

Structure présente à la surface de la molécule d'antigène, capable de se combiner à une seule molécule d'anticorps.

Glycoprotéine

Association moléculaire formée d'une protéine et d'un complexe hydrocarboné.

Histamine

Amine naturelle que l'on trouve dans les mastocytes et d'autres cellules dispersées dans l'organisme et qui, une fois libérée, cause, entre autres, une dilatation capillaire et une contraction des muscles lisses.

Histaminolibérateur

Libération locale d'histamine due à des causes diverses, soit après un contact local (piqûres d'insectes, contact avec des orties), soit après absorption de certains médicaments (acétylcholine, opiacés, etc.).

IgE

Classe d'immunoglobulines contenant deux chaînes lourdes et deux chaînes légères, de poids moléculaire 200 000 environ, de très faible concentration sérique, et qui contiennent, 11 % de glucides. Ces immunoglobulines sont le plus souvent responsables de l'activité anticorps réaginique, les réactions allergiques qui se traduisent chez l'homme par une libération d'histamine étant provoquées par les anticorps de cette classe.

Imidazoline

Noyau hétérocyclique de structure $N=CH-NH-CH_2-CH_2$.

Immunocapteur

Biocapteur analysant des interactions biologiques entre un antigène et son anticorps spécifique.

In vitro

Se dit d'un fait, d'une expérience ou d'une réaction qui se produit en milieu artificiel, en laboratoire sur une lame de verre ou dans de la verrerie de laboratoire.

In vivo

Se dit d'un fait qui évolue, d'une expérience ou d'une exploration qui est observée ou pratiquée dans l'organisme vivant.

Isotypes

Caractère propre aux immunoglobulines d'une espèce, tous les individus de l'espèce ayant le caractère.

Natifs

Se dit d'une espèce végétale ou animale qui est originaire du lieu de croissance et de reproduction où elle vit.

Sonde

Espèce biologique fixée à l'interface solide du biocapteur pour reconnaître la cible.

Taux de recouvrement

Grandeur mesurée par les biocapteurs optiques correspondant à la quantité de matière par unité de surface s'étant déposée sur le transducteur.

Transducteur

Élément transformant un signal d'un type donné en un signal d'un autre type (par exemple un signal biologique en signal optique ou électrique).

A. Procédé de micro-fabrication de miroir

LITHOGRAPHIE - Résine Shipley S1805

S1805 : résine fine typiquement 1 à 2 μm

- **Enduction** par Deep coating

- **Cuisson**

Température : 92 °C

Durée : 15 à 20 min

- **Insolation**

Durée : 2 à 3 secondes avec la diode laser violette (417 nm, puissance égale à 500 μW).

- **Développement**

Developer : MF319 pur

Bêcher ou petit cristalliseur

Durée : 8 à 10 secondes d'après le résultat visuel

Rinçage : grande eau (DI) pendant 1 minute

Séchage à la soufflette

- **Strippage**

Acétone (rincer à l'alcool, puis acétone, plusieurs fois)

Rincer à grande eau

B. Préparation et réalisation de SAMs² biofonctionnelle

1 étape : nettoyage des échantillons.

- bain une solution chloré : chloroforme + ultrason (force 6/ 15 min) \implies dégraissant
- bain de piranhas chaud :
 - * 80% acide sulfurique + eau
 - * 20% H_2O_2

On chauffe d'abord l'acide sulfurique à 80 °C puis on introduit H_2O_2 ce qui provoque une augmentation d'enthalpie et donc de la température qui approche alors les 150 °C.

On laisse les échantillons environ 35 à 40 min dans le bain.

2 étape : fixer le silane fonctionnalisé.

- les échantillons nettoyés sont ensuite rincés dans un bain d'eau puis séchés.
- on dépose ensuite les échantillons dans une solution composée de :
30 ml H_2O + 100 μl 3-aminopropyldiméthyléthoxysilane. (6 heures).
- nettoyage eau+acétone.

3 étape : fixation de la biotine.

- préparation d'une solution tampon phosphate salée (phosphate buffer saline PBS).

\implies Dosage pour un litre de solution :

²SAMs : monocouches autoassemblées

- * Eau distillé : 1000 ml
- * NaCl : 8g (gros sel de cuisine)
- * $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 0,4g
- * $\text{NaHPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$: 2,7g ou Na_2HPO_4 anhydre : 1,08g

⇒ Dans notre cas on ne prépare que 100 ml de produit, on divise donc toutes nos doses par 10.

- on plonge alors les échantillons dans la solution de phosphate, puis on introduit 20 mg de biotine. Laisser en solution pendant 6 heures.
- nettoyage des échantillons dans une solution d'eau déminéralisée.

4 étape : biofonctionnalisation de la SAM.

- préparation d'une nouvelle solution de PBS (100 ml).
- on plonge alors nos échantillons dans la solution de phosphate, puis on introduit 1 mg avidine. Laisser en solution pendant 3 à 6 heures.
- nettoyage des échantillons dans une solution d'eau déminéralisée.

C. Schéma de l'extensiomètre

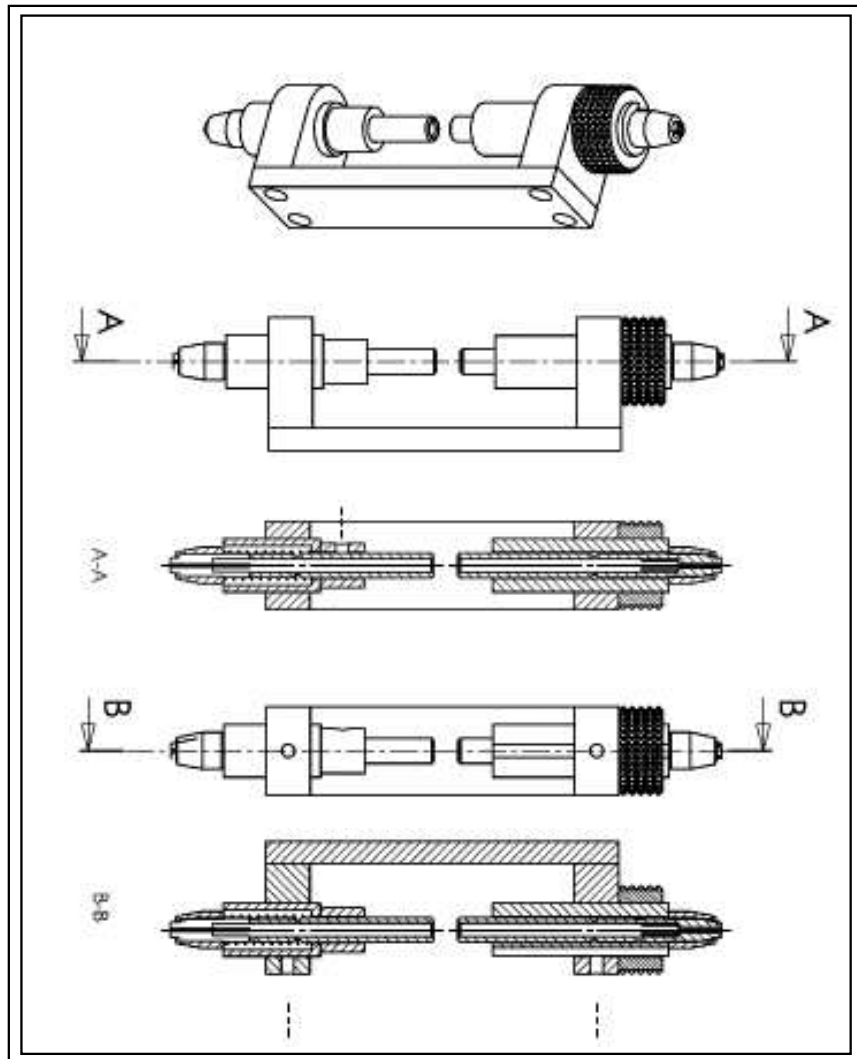


FIG. 3.60 – Vue et coupe de l'extensiomètre.

Bibliographie

- [1] L.C.Clark, Jr. et C.Lyons. Electrode system for continuous monitoring of cardiovascular surgery. *Ann. NY Acad. Sci.*, **102**, p. 29–45, 1962.
- [2] C.Tran-Minh. *Les biocapteurs. Principe, constructions et applications*. Masson, 1991.
- [3] Anh Tuan Mai. *Développement des biocapteurs electrochimiques à base de tyrosinase pour la detection des polluants organiques en phase aqueuse*. Thèse, Université Claude Bernard-Lyon1, 2004.
- [4] J.H.Lakey et E.M.Raggett. Measuring protein-protein interactions. *Curr. Opin Struc. Biol*, pages 119–123, 1998.
- [5] J.Rickert, A.Brecht et W.Göpel. Quartz crystal microbalances for quantitative biosensing and characterizing protein multilayers. *Biosens. and Bioelectron.*, **12**, p. 567–575, 1997.
- [6] N.Barié et M.Rapp. Covalent bound sensing layers on surface acoustic wave (saw) biosensors. *Biosens. and Bioelectron*, **16**, p. 979–987, 2001.
- [7] A.N.Asanov, W.W.Wilson et P.B.Oldham. Regenerable biosensor platform : a total internal reflection fluorescence cell with electrochemical control. *Anal.Chem*, **70**, p. 1156–1163, 1998.
- [8] G.M.Willems, M.P.Janssen, P.Comfurius, M.Galli, R.F.A.Zwall et E.M.Bevers. Kinetics of prothrombin mediated binding of lupus anticoagulant antibodies to phosphatidylserine containing phospholipids membranes : an ellipsometric study. *Biochemistry*, **41**, p. 14357–14363, 2002.
- [9] W.A.Challener, J.D.Edwards, R.W.McGowan, J.Skorjanec et Z.Yang. A multilayer grating-based wave sensing technique. *Sensors and Actuators B*, **14**, p. 42–46, 2000.
- [10] M.Weisser, G.Tovar, S.Mittler-Neher, W.Knoll, F.Brosinger, H.Freimuth, M.Lacher et W.Ehrfeld. Specific bio-recognition reactions observed with an integrated mach-zehnder interferometer. *Biosens. and Bioelectron.*, **14**, p. 405–411, 1999.
- [11] W.M.Mullet, E.P.C.Lai et J.M.Yeung. Surface plasmon resonance-based immunoassays. *Methods*, **22**, p. 77–91, 2000.

- [12] P.E. Buckle, R.J.Davies, T.Kinning, D.Yeung, P.R.Edwards et D.Pollard-Knight. The resonant mirror : a novel optical sensor for direct sensing of biomolecular interactions part ii : applications. *Biosens. and Bioelectron.*, **8**, p. 355–363, 1993.
- [13] C.K.Yeung, S.Ingebrandt, M.Krause, A.Hoffenhäusser et W.Knoll. Validation of the use of field effect transistors for extracellular signal recording in pharmacological bioassays. *J Pharmacol. Toxicol. Methods*, **45**, 2001, 207-214., **45**, p. 207–214, 2001.
- [14] M.A.Lopez, F.Ortega, E.Dominguez et I.Katakis. Electrochemical immunosensor for the detection of atrazine. *J.Mol.Recognition*, **11**, p. 178–181, 1998.
- [15] T.A.Sergeyeva, N.V.Lavrik, A.E.Rachkov, Z.I.Kazantseva et A.V.Alšskaya. An approach to conductometric immunosensor based on phthalocyanin thin film. *Biosens. and Bioelectron*, **13**, p. 359–369, 1998.
- [16] K.Ramanathan et B.Danielsson. Principles and applications of thermal biosensor (review paper). *Biosens. and Bioelectron*, **16**, p. 417–423, 2001.
- [17] James C. Weaver, Charles L. Cooney, Scott P. Fulton, Peter Schuler et Steven R. Tannenbaum. Experiments and calculations concerning a thermal enzyme probe. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Enzymology*, **452**, p. 285–291, 1976.
- [18] Andrew G. Smith et Charles J. W. Brooks. Cholesterol oxidases : Properties and applications (review article). *Journal of Steroid Biochemistry*, **7**, p. 705–713, 1976.
- [19] B. Danielsson, L. Buelow, C. R. Lowe, I. Satoh et K. Mosbach. Evaluation of the enzyme thermistor as a specific detector for chromatographic procedures. *Analytical Biochemistry*, **117**, p. 84–93, 1981.
- [20] B.Danielsson et L.Flygare. Performance of a thermal of thermal biosensor in organic solvents. *Sens. Actuators B*, pages 523–527, 1990.
- [21] M.Rank et B.Danielsson. Implentation of a thermalbiosensor in a process environment : on-line monitoring of penicillin v inproduction-scale fermentations. *Biosens. and Bioelectron*, **7**, p. 127–130, 1992.
- [22] K.Ramanathan, B.R.Jönsson et B.Danielsson. Sol-gel based thermal biosensor for glucose. *Anal.Chim.Acta*, **427**, p. 1–10, 2001.
- [23] G.Sauerbrey. *J.Phys.*, **155**, p. 206, 1959.
- [24] J.F.Ader et J.J.Mc.Callum. Piezoelectric crystal for mass and chemical measurement. *Analyst*, **108**, p. 1169–1189, 1983.
- [25] P.Skladal, C.dos.Santos.Riccardi et H.Yamanaka. Piezoelectric biosensors for real-time monitoring of hybridization and detection of hepatitis c virus. *Journal of Virological Methods*, **117**, p. 145–151, 2004.

- [26] E.Uttenthaler, C.Köblinger et S.Drost. Quartz crystal biosensor for the african swine fever disease. *Anal.Chim.Acta*, **362**, p. 91–100, 1998.
- [27] S.Tombelli, M.Mascini et A.P.F.Turner. Improved procedures for immobilisation of oligonucleotides on goldcoated piezoelectric quartz crystals. *Biosens. and Bioelectron.*, **17**, p. 929–936, 2002.
- [28] M.Minunni, M.Mascini, R.M.Carter, M.B.Jacobs, G.J.Lubrano et G.G.Guilbault. A quartz crystal microbalance displacement assay for listeria monocytogenes. *Anal. Chim. Acta*, **325**, p. 169–174., 1996.
- [29] S.Tombelli, M.Mascini, C.Sacco et A.P.F.Turner. A dna piezoelectric biosensor assay coupled with a polymerase chain reaction for bacterial toxicity determination in environmental samples. *Anal.Chim. Acta*, **418**, p. 1–9, 2000.
- [30] A.Makower, J.Halamek, P.Skadal, F Kernchen et F.W.Scheller. New principle of direct real-time monitoring of the interaction of cholinesterase and its inhibitors by piezoelectric biosensors. *Biosens. and Bioelectron.*, **18**, p. 1329–1337, 2003.
- [31] C.K.O'Sullivan et G.G.Guilbault. Commercial quartz crystal microbalances-theory and application. *Biosens. and Bioelectron.*, **14**, p. 663–670, 1999.
- [32] A.J.Bard et L.R.Faulkner. *Electrochemical Methods*. J.Wiley and Sons, 1980.
- [33] HU et K.W.J.Vogelhult. Polymer catalyst transducers and their use in test kits for analytical methods (miles). *European Patent Application EP 140322*, 1985.
- [34] G.A.Zhylyak, S.V. Dzyadevich, Y.I.Korpan, A.P.Soldakin et A.V.Elskaya. Application of urease conductimetric biosensors for heavy metal ion determination. *Sens. Actuators B*, **24**,, p. 145–148, 1995.
- [35] T.Liebermann, W.Knoll, P.Sluka et R.Herrmann. Complement hybridization from solution to surface attached probe-oligonucleotides observed by surface-plasmon-field-enhanced fluorescence spectroscopy, . *Colloids Surf. A*, **169**, p. 337–350, 2000.
- [36] <http://www.affymetrix.com>.
- [37] C.H.Stamm et W.Lukosz. Integrated optical difference interferometer as immunosensor. *Sensors and Actuators B*, **31**, p. 203–207, 1996.
- [38] Z.M.Qi, N.Matsuda, K.Itoh, M.Murabayashi et C.R.Lavers. A design for improving the sensitivity of a mach-zehnder interferometer to chemical and biological measurands. *Sensors and Actuators B*, **81**, p. 254–258, 2000.
- [39] W.Lukosz. Integrated optical chemical and direct biochemical sensors. *Sensors and Actuators B*, **29**, p. 37–50, 1995.

- [40] F.Brosinger, H.Freimuth, M.Lacheer, W.Ehrfeld, E.Gedig, A.Katerkamp, F.Spener et K.Cammann. A label-free affinity sensor with compensation of unspecific protein interaction by a highly sensitive integrated optical mach-zehnder interferometer on silicon. *Sensors and Actuators B*, **44**, p. 350–355, 1997.
- [41] E.Kretschmann et H.Raether. Radiative decay of non radiative surface plasmons excited by light. *Naturforsch*, **23A**, p. 2135–2136, 1968.
- [42] A.Otto. Excitation of surface plasma waves in silver by method of frustrated total reflection. *Z.Physik*, **216**, p. 398–410, 1968.
- [43] K.Johansen, R.Stalberg, I.Lundstrom et B.Liedberg. Surface plasmon resonance : instrumental resolution using photo diode arrays. *Measurement Science Technology*, **11**, p. 1630–1638, 2000.
- [44] A.A.Kolomenskii, P.D.Gershon et H.A.Schluessler. Sensitivity and detection limit of concentration and adsorption measurement by laser-induced surface Űplasmon resonance. *Applied Optics*, **36**, p. 6539–6547, 1997.
- [45] J.H.Grassi et R.M.Georgiadis. Temperature-dependent refractive index determination from critical angle measurement : implications for quantitative spr sensing. *Analytical Chemistry*, **71**, p. 4392–4396, 1999.
- [46] H.P.Chiang, Y.C.Wang, P.T.Leung et W.S.Tse. A theoretical model for the temperature-dependent sensitivity of the optical sensor based on surface plasmon resonance. *Optics Communications*, **188**, p. 283–289, 2001.
- [47] P.Fabry et J.Fouletier. *Microcapteurs chimiques et biologiques*, Lavoisier, 2003. Lavoisier, 2003.
- [48] O.S.Wolfbeis. Fiber-optic chemical sensors and biosensors. *Anal. Chem.*, **76**, p. 3269–3284, 2004.
- [49] O.S.Wolfbeis. Fiber-optic chemical sensors and biosensors. *Anal. Chem.*, **72**, p. 81R–89R, 2000.
- [50] D.L.Coq, K.Michel, J.Keirsse, C.Boussard.Plédel et G.Fonteneau. Infrared glass fiber for in-situ sensing, chemical and biochemical reactions. *C.R.Chimie*, **5**, 2002.
- [51] H.Phillip, P.Kychakoff et G.Kychakoff. Fiber-optic evanescent field absorption sensor. *Appl. Phys. Lett*, **51**, p. 12–14, 1987.
- [52] K.Newby, W.M.Richert, J.D.Andrade et R.E.Benner. Remote spectroscopic sensing of chemical adsorption using single multimode optical fiber. *Applied Optics*, **23**, 1984.

- [53] H.Tai, H.Tanaka et T.Yoshino. fiber-optic evanescent-wave methane-gas sensor using optical absorption for the 3,392- μm line of a he-ne laser. *Optics Letters*, **12**, p. 437–439, 1987.
- [54] A.Messica, A.Greenstein, A.Katzir et M.Tacke U.Schiessl. Fiber-optic evanescent wave sensor for gas detection. *Optics Letters*, **19**, p. 1167–1169, 1994.
- [55] R.Krska, E.Rosenberg, K.Tagat, R.Kellner, A.Messica et A.Katzir. Polymer coated silver halide infrared fibers as sensing devices for chlormated hydrocarbons in water. *Appl. Phys. Lett.*, **61**, p. 1778–17780, 1992.
- [56] S.A.Grant, K.Bettencourt, P.Krulevitch, J.Hamilton et R.Glass. In vitro and in vivo measurements of fiber optic and electrochemical sensors to monitor brain tissue ph. *Sensors and Actuators B*, **72**, p. 174–179, 2001.
- [57] F.Baldini, P.Bechi, S.Bracci, F.Cosi et F.Pucciani. In vivo optical fiber-fibre ph sensor for gastro-oesophageal measurements. *Sensors and Actuators B*, **29**, p. 164–168, 1995.
- [58] B.Mizaikoff, K.Tagat et RKellner. Infrared fiber optic gas sensor for chlorofluorohydrocarbons. *Vibrational Spectroscopy*, **8**, p. 103–108, 1995.
- [59] C.Zhou, P.Pivarnik, S.Auger, A.Rand et S.Letcher. A compact fiber-optic immunosensor for salmonella based on evanescent wave excitation. *Sensors and Actuators B*, **42**, p. 169–175, 1997.
- [60] P.J.Devine, N.A.Anis, J.Wright, S.Kim, A.T.Eldefrawi et M.E.Eldefrawi. A fiber-optic cocaine biosensor. *Anal. Biochemistry*, **227**, p. 216–224, 1995.
- [61] T.B.Tims et D.V.Lim. Rapid detection of bacillus anthracis spores directly from powders with an evanescent wave fiber-optic biosensor. *J. Microbiological Methods*, **59**, p. 127–130, 2004.
- [62] R.C.Jorgenson et S.S.Yee. A fiber-optical chemical sensor based on surface plasmon resonance. *Sensors and Actuators B*, **12**, p. 213–220, 1993.
- [63] A.J.C.Tubb, F.P.Payne, R.B.Milligton et C.R.Lowe. Single-mode optical fibre surface plasma wave chemical sensor. *Sensors and Actuators B*, **41**, p. 71–79, 1997.
- [64] R.Slavik, J.Homola et J.Ctyroky. Miniaturization of fiber optic surface plasmon resonance sensor. *Sensors and Actuators B*, **51**, p. 311–315, 1998.
- [65] R.Slavik, J.Homola et J.Ctyroky. Novel spectral fiber optic sensor based on surface plasmon resonace. *Sensors and Actuators B*, **74**, p. 106–111, 2001.
- [66] P.B.Luppa, L.J.Sokoll et D.W.Chan. Immunosensors-principles and applications to clinical chemistry. *Clin. Chim. Acta*, **314**, p. 1–24, 2001.

- [67] R.Guist. *Démonstration d'un processeur systolique à cristaux liquides, dédié au calcul numérique de produits matrice - matrice*. Thèse, Université de Franche-Comté, 1997.
- [68] C.Gutierrez-Martinez. *Multiplexage par modulation de cohérence en optique intégrée sur niobate de lithuim. Etude et réalisation de modulateurs rapides de cohérence*. Thèse, Université de Franche-Comté, 1994.
- [69] Ph.Grossel, J.M.Vigoureux et F.Baïda. Non local approach to scattering in a one-dimensional problem. *Physical Review A*, **50**, p. 3627–3637, 1994.
- [70] F.Höök, J.Vörös, M.Rodahl, R.Kurrat, P.Böni, J.J.Ramsden, M.Textor, N.D.Spencer, P.Tengvall, J.Gold et B.Kasemo. A comparative study of protein adsorption on titanium oxide surfaces using in situ ellipsometry, optical waveguide lightmode spectroscopy, and quartz crystal microbalance/dissipation. *Colloids and surfaces B*, **24**, p. 155–170, 2002.
- [71] R.J.Marsh, R.A.L.Jones et M.Sferrazza. Adsorption and displacement of globular protein on hydrophilic and hydrophobic surfaces. *Colloids and surfaces B*, **23**, p. 31–42, 2002.
- [72] C.Cohen-Tannoudji, B.Diu et F.Laloë. *Mécanique quantique*. Hermann, 1993.
- [73] M. Madou. *Fundamentals of microfabrication*. CRC Press, 1997.
- [74] A. Rosental, P. Adamson et al. Atomic layer deposition in travelling-wave reactor : in situ diagnostics by optical reflection. *Appl. Surf. Science*, **112**, p. 82–86, 1997.
- [75] K. Nishida, K. Morisawa, A.Hiraki, S.Muraishi et T.Katoda. In situ monitoring of pe-cvd growth of tio2 films with laser raman spectroscopy. *Appl. Surf. Science*, **159-160**, p. 143–148, 2000.
- [76] C.K. Ong et S.J. Wang. In situ rheed monitor of the growth of epitaxial anatase tio2 thin films. *Appl. Surf. Science*, **185**, p. 47–51, 2001.
- [77] J.M.Bennett, E.Pelletier, G.Albrand, J.P.Borgogno, B.Lazarides, C.K.Carniglia, R.A.Schmell an T.H.Allen, T.Tuttle-Hart, K.H.Guenther et A.Saxer. Comparaison of the properties of titanium dioxide films prepared by various techniques. *Applied optics*, **28**, p. 3303–3317, 1989.
- [78] K.N.Rao et S.Mohan. Influence of substrate temperature and post-deposition heat treatment on the optical properties of sio2 films. *Thin solid films*, **170**, p. 179–184, 1989.
- [79] C.E.Lee et H.F.Taylor. Interferometric optical fiber sensor using internal mirrors. *Electronic letters*, **24**, p. 193–194, 1988.
- [80] T.Valis, D.Hogg et R.Measures. Composite material embedded fiber-optic fabry-perot strain rosette. *SPIE - Fiber optic smart structures and skins III*, **1370**, p. 154–161, 1990.

- [81] T.Rossmann, X.D.Jin, J.S.Sirkis, M.K.Park, V.Venkat et B.D.Prasad. Manufacturing of core mirror for intrinsic fabry-pérot interferometers using sol-gel process.
- [82] D.Saying, L.Yanbio, Z.Min et T.Qian. Effects of chemical modification on fusion splicing strength and optical parameters of optical fiber. *Optical engineering*, **44**, p. 1–4, 2005.
- [83] C.E.Lee, R.A.Atkins et H.F.Taylor. Reflectively tapped optical fibre transversal filters. *Electronics letters*, **23**, p. 596–598, 1987.
- [84] C.E.Lee, A.M.Markus et E.Udd. Optical-fiber fabry-perot embedded sensor. *Optics letters*, **14**, p. 1225–1227, 1989.
- [85] C.De Boor. *A practical guide to splines*. New York, 2001.
- [86] Y.Hiller, E.A.Bayer et M.Wilchek. Studies on the biotin-binding site of avidin : minimized fragments that bind biotin. *Biochemical journal*, **278**, p. 573–585, 1991.
- [87] R.B.Honzatko et R.W.Williams. Raman spectroscopy of avidin : secondary structure, disulfide conformation, and the environment of tyrosine. *Biochemistry*, **21**, p. 6201–6205, 1982.
- [88] S.Luo et D.R.Walt. Avidin-biotin coupling as a general method for preparing enzyme-based fiber-optic sensors. *Analytical Chemistry*, **60**, p. 1069–1072, 1989.
- [89] J.I.Anzai, T.Hoshi et T.Osa. Avidin-biotin complexation for enzyme sensor application. *Trends in analytical chemistry*, **13**, p. 205–210, 1994.
- [90] A.B.Lin, J.Qui, J.Gerstenmeier, P.Li, H.Pien, J.Pepper et B.Cunningham. A label-free optical technique for detecting small molecule interactions. *Biosensors and bioelectronics*, **17**, p. 827–834, 2002.

RÉSUMÉ

Le travail de thèse présenté s'inscrit dans le vaste domaine des biocapteurs appliqués au secteur biomédical.

Le biocapteur développé est destiné à la mesure de concentration de substances chimiques. De nombreux biocapteurs optiques ont déjà été mis au point pour la détection de ces substances. L'originalité de notre travail réside dans l'utilisation d'une réaction biochimique à proximité du cœur d'une fibre optique pour modifier les conditions de résonance d'une cavité Fabry-Pérot par couplage évanescent.

Le principe de ce capteur s'articule autour de deux techniques de métrologie optique :

- Fonctionnalisation biochimique de l'interface cavité-milieu extérieur pour que la

concentration de la substance cible modifie l'indice effectif de l'onde se propageant dans la cavité Fabry-Pérot par couplage évanescent.

- Interférométrie : mesure précise de la longueur optique de la cavité pour suivre l'évolution de l'indice effectif.

L'intérêt d'un tel système est d'offrir un capteur de dimensions très réduites (taille proche d'une fibre optique). La réalisation sur une même fibre de plusieurs capteurs avec différentes longueurs de cavité fournit une sonde multiparamétrique, interrogeable par les techniques classiques d'interférométrie (modulation de cohérence).

MOTS-CLÉS

Biocapteur, Fibre optique, Cavité Fabry-Pérot intrinsèque, Modulation de cohérence, Couplage évanescent, Biofonctionnalisation, Monocouches Autoassemblées.

ABSTRACT

This thesis work is in the more general and huge frame of biosensors applied to the biomedical sector.

The developed sensor is dedicated to concentration measurement of chemical substances. We use a biochemical reaction in the vicinity of the core of an optical fiber which modifies the propagation conditions of the optical wave by evanescent coupling. The sensitive part involves an intrinsic optical fiber Fabry-Pérot interferometer.

The principle of this sensor combines two optical aspects :

- A biochemical fonctionnalisation of the optical wave guide in order to make the effec-

tive index dependent on the concentration of the substance targets by evanescent coupling. This part of the optical fiber is addressed through a Fabry-Pérot interferometer cavity.

- An interferometry detection unit which performs accurate measurements of the optical length of the cavity.

The interest of such a system is to offer reduced dimensions; i.e. the size of an optical fiber. The integration on a single fiber of several sensors, with different cavity lengths, gives us the ability to achieve a multispecific probe. The detection involves classical interferometry techniques such as coherence modulation.

KEY-WORDS

Biosensor, Optical Fiber, Intrinsic Fabry-Pérot cavity, Cohérence Modulation, Evanescent Coupling, Self Assembled Monolayers.